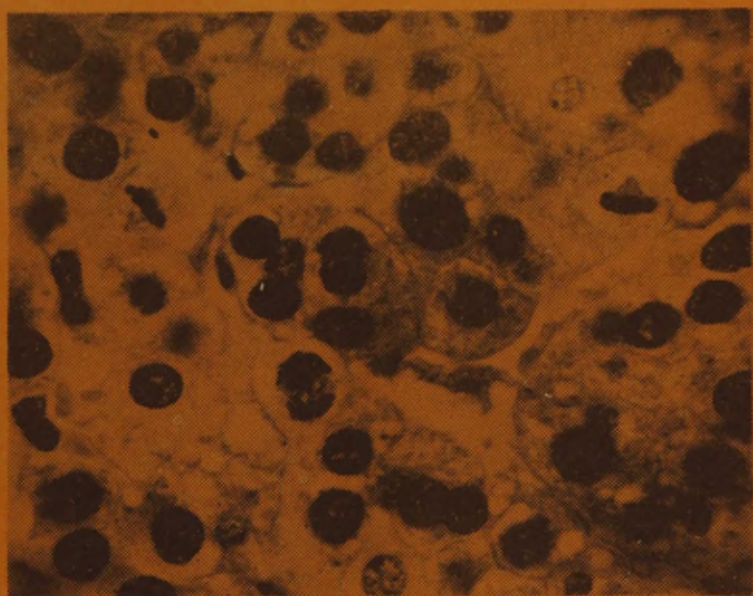




# ТКАНЕВАЯ БИОЛОГИЯ



ТАРТУСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

---

# ТКАНЕВАЯ БИОЛОГИЯ

Материалы третьего республиканского  
научного совещания 3-4 июня 1980 г.

---

ТАРТУ 1980

Редакционная коллегия: Ю.Аренд,  
А.Лешп, Е.Мурашев(отв.редактор), А.Труушылд.

Оформление обложки: И.Кудисийм.

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ТКАНЕЙ И ИХ ИЕРАРХИЧЕСКАЯ ТАКСОНОМИЯ

В.П. Михайлов

Лаборатория экспериментальной гистологии Института  
экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

"Было бы заблуждением считать, - писал академик В.А. Энгельгардт, - что с возникновением молекулярной биологии должны в какой-то мере отмереть те разделы естествознания, которые... именуется "классической биологией", то есть зоология, гистология и другие. Ясно, что за ними сохраняется ведущая роль в познании живого мира на иных, более сложных уровнях развития. Но можно не сомневаться, что новые концепции..., которые черпаются из успехов молекулярной биологии, будут приняты на вооружение классическими ветвями биологической науки" (1965, стр. 19).

Гистологию, науку о развитии, строении и жизнедеятельности тканей животного организма, молекулярная биология "вооружила", говоря словами Энгельгардта, в первую очередь учением о генетической однородности соматических клеток и механизмах регуляции в них синтеза белков. Естественно, самое непосредственное отношение имеют эти "новые концепции" и для определения понятия "ткань". Давать его сейчас без ссылок на эпигеномный характер тканевой наследственности уже нельзя (Ю.Б. Вахтин, 1974; В.П. Михайлов и Г.С. Катинас, 1977). При этом, однако, нельзя подменять понятие ткани представлениями о клеточных популяциях, в которых элементы располагаются в трехмерном пространстве без особого порядка. Ткани же представляют собой системы клеток не только со строго определенным их расположением, но и взаимоотношением.

Многочисленные исследования митотических циклов и биосинтетических процессов в клеточных популяциях зародышей на различных стадиях их развития углубили и конкретизировали представление о дивергентной дифференцировке, как общей закономерности гистогенеза, а вместе с тем идеи Bencini (1936)



о стволовых клетках, как элементах, обладающих более "общими родовыми потенциями" по сравнению с камбиальными, и поэтому способных к дифференцировке в различных направлениях.

Гистологи и патогистологи всегда понимали, что морфо-функциональная дифференцировка - процесс сложный. Теоретическое обоснование этому опять-таки дала молекулярная биология. Особое внимание обратил на необходимость расчленения эпигенетического процесса, лежащего в основе дифференцировки клеток высшего организма, Waddington (1965). На первых его этапах под влиянием различных индукторов группы генов "подготавливаются" к специфической деятельности, а на последующих активизируются в определенной последовательности. С учетом всего этого мною вместе с К.И. Пыльдвере были даны в 1968 году определения гистологической детерминации, как процесса программирования белкового синтеза, а гистологической дифференцировки, как ее реализации при наличии соответствующих условий. Разделение это особенно важно для понимания тканевых изменений, происходящих в эксперименте и патологии, когда сплошь и рядом наблюдается дедифференцировка клеток с утратой специальных структур, но с сохранением присущего им объема потенций. Вместе с тем прочную биологическую основу получает и учение о "латентных потенциях" тканей, которые проявляются в виде метаплазий (Fischer - Wasels, 1927).

Как известно, в гистологии общепринятой является морфо-физиологическая классификация тканей, основы которой в середине прошлого столетия создали Leydig и Kölliker. Эволюционно-теоретическое обоснование этой системе дал академик А.А. Заварзин (1945). По его представлению, филогенетическое развитие тканей в рамках четырех групп (эпителии, соединительные ткани, мышечные и нервные) обеспечивало выполнение четырех элементарных функций многоклеточного организма: пограничность, внутреннюю среду, реактивность и движение.

Наряду с этим сорок лет назад моим учителем Николаем Григорьевичем Хлопиным была разработана классификация тканей, основанная на генетическом принципе. За рубежом (кроме, пожалуй, Болгарии) она неизвестна. В нашей стране ею пользуются лишь на отдельных кафедрах и лабораториях. Развитие эпигене-

тики показывает, однако, что ей должно быть уделено большее внимание.

Первую попытку создания генетической системы тканей произвел еще Ernst Haeckel (1885). Успеха она, как известно, не имела, так как основывалась на формально-статических морфологических признаках. Неудачной оказалась и генетическая классификация тканей Е.С. Данини (1934). Говоря о "генезе" тканей и "потенциале" их элементов, фактически он взял за основу наличие (или отсутствие) "полярности" клеток в исходных структурах зародыша (эпителиобразное или рыхлое их строение).

В основу генетической (естественной) системы тканей Н.Г. Хлопина (1943) были взяты не морфологические особенности нормально функционирующих тканей, а объем их "гистобластических потенциалов", то есть совокупность признаков, выявляемых при различных условиях существования и, в частности, эксперименте и патологии. Свойства каждой ткани определяются источником и путями ее развития. Они выражают приобретенную ею в филогенезе специфичность и, вместе с этим, являются проявлением ее детерминации. Генетическая система была разработана на тканях позвоночных животных, однако и до настоящего времени объем морфогенетических потенциалов многих из них (эпителиев шейки матки и полости тела, эндотелия сосудов и др.) остается неясным. Естественно, что и сам Н.Г. Хлопин не считал ее законченной и призывал к дальнейшей разработке с внесением необходимых "исправлений, дополнений и уточнений" (1959). Классификация тканей Лейдига и Келликера, несмотря на некоторую свою непоследовательность, представляет собой "одну из основ современной гистологии" (Н.Г. Хлопин, 1948, стр. 313). Совершенно понятно, что генетическая система ее не отменяет, а дополняет, подобно тому как естественная филогенетическая классификация животных не отменяет их классификации по экологическим или анатомическим признакам.

В классификации Н.Г. Хлопина основное место занимает "тканевой тип" - система гистологических структур, развитие которых происходит по "основному закону эволюционной морфологии, схематически изображаемому в виде филогенетического

деревя с дивергентно расходящимися ветвями" (1946, с. 431).

Такое "гистогенетическое дерево" было составлено и схематически нарисовано мной в 1937 году (рис. I). Оно отражает первые этапы разработки в лабораториях Н.Г. Хлопина "естественной" системы тканей, на которых подчеркивалась связь тканевых типов с зародышевыми листками. Вместе с тем, однако, оно свидетельствует о наметавшемся критическом отношении к механическому перенесению в область гистологии эмбриологических данных. Производные целома (с эпителиальной выстилкой моллеровских каналов, миокардом и нефрогенной тканью) рассматриваются в связи не с мезодермой, а энтодермой, а вольфовы каналы - эктодермой. Удачно, я считаю, показан генетически сборный характер двух групп тканей морфо-физиологической классификации - соединительной (мезенхимной) и мышечной. Разумеется, на схеме этой не все было продумано достаточно глубоко. В частности, на ней нужно было показать, что три дерева соединены общей корневой системой вместе.

Впервые вообще "теорию гистогенетического дерева" (*La théorie de l'arbre histogénique*) выдвинул патолог Bard (1886), один из основоположников учения о специфичности тканей. В основе его лежит представление о двояком характере кариокинетического деления клеток эмбриона начиная с двух бластомеров. В одном случае это простое увеличение числа клеток. В другом при делении происходит процесс "раздвоения" их "наследственного начала" (*la souche atavique*), сравнимый с химическим разложением сложного тела на более простые. Повторные процессы "раздвоения" приводят к образованию специализированных клеток, утративших способность превращения друг в друга. "Первоначальную сложность" сохраняют только будущие половые клетки, которые способны поэтому в семеннике и яичнике давать начало опухолям, содержащим элементы всех тканей. Таким образом, в целом процесс гистогенеза можно схематически представить в виде дерева, от ствола которого отходят ветви с дальнейшими ветвлениями.

"Теория гистогенетического дерева, - писал Bard, - говорит нам не только об общем происхождении разнообразных клеточных типов из одного общего ствола, но так же об объективной реальности семейств и видов, которые объединяют в ес-



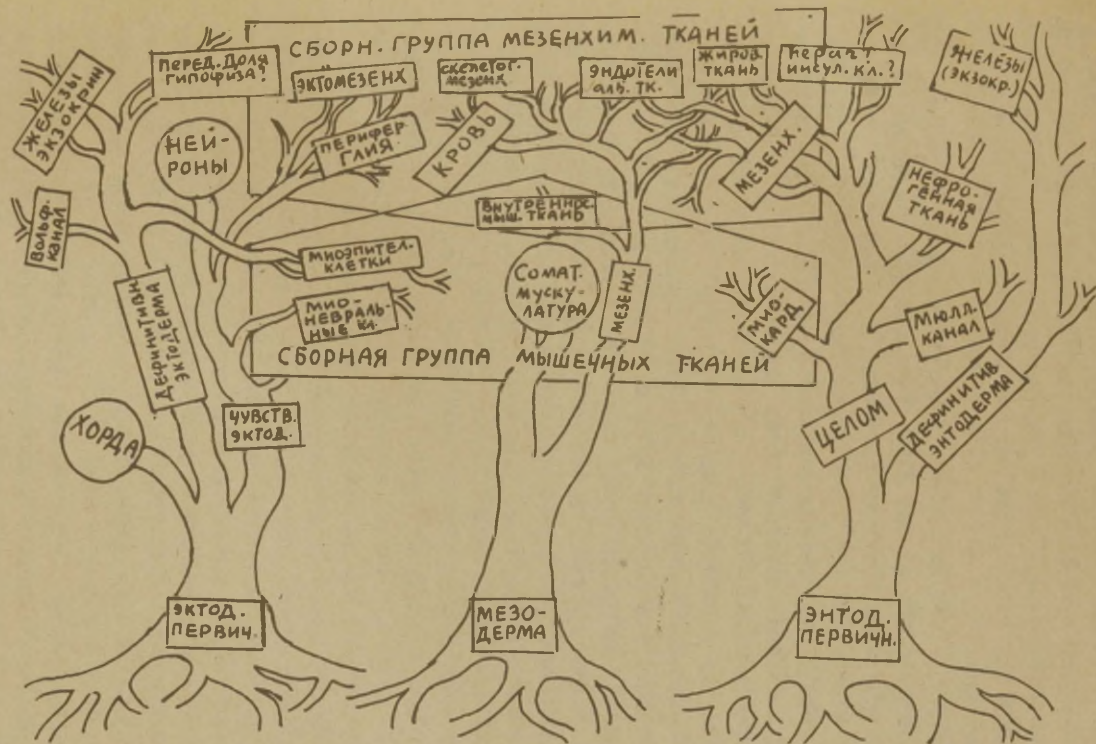


Рис. I. Гистогенетическое дерево тканей позвоночных животных. Публикуемый впервые рисунок 1937 г., отражающий ранний этап разработки в школе Н.Г.Хлопина генетической системы тканей. Объяснения в тексте.



фественные и наследственные группы различные разновидности" (1886, с. 415). Особое внимание придавал он "узловым точкам" в месте ветвления основных ветвей, представленных "переходными клетками" различной сложности, которые полностью еще не специализировались. Точное определение таких "точек" может объяснить как особенности, так и общие свойства многих клеточных типов.

Конечно, Н.Г. Хлопин был совершенно прав, говоря, что гистогенетическое дерево Бара "осталось совершенно абстрактным построением, никак не связанным с реальными тканями" (1946, с. 85). Вместе с тем необходимо подчеркнуть, что Бард был, по-видимому, первым морфологом, написавшим, что специфические свойства клеточных типов (то есть тканей) отражают их "местную наследственность" (*hérité locale*). Это дало возможность ему выдвинуть известную формулу "*omnis cellula e cellula ejusdem naturae*". Бару также принадлежит, несомненно, приоритет в постановке вопроса об иерархической таксономии тканей. Для обозначения типов клеток, находящихся на различных ветвях гистогенетического дерева, он пользуется как общепринятыми терминами семейство (*famille*), вид (*espèce*) и разновидность (*variété*), так и специальным обозначением - "гистогенетическая ветвь" (*rameau histogénique*). В наше время как назревшую задачу при разработке генетической системы тканей выдвинул эту проблему совершенно правильно А.Г. Кнорре (1969). Это понятно. Выяснение гистогенетических отношений практически всегда связано с разработкой схем, на которых показаны исходные плюрипотентные клетки, линии их дивергентной дифференцировки, переходные формы и образовавшиеся специализированные элементы. Для всех этих различных по объему гистобластических потенций и биологическому значению клеток, разумеется, нужны какие-то общие названия. Их пока нет и авторы выходят из создавшегося положения по-разному. Так, И.Л. Чертков и А.Я. Фриденштейн в инструктивной схеме начальных этапов кроветворения (1977) полипотентные, частично детерминированные и унипотентные предшественники обозначают как различные "классы". В противоположность этому А.А. Заварзин (младший) в богатой новым фактическим материалом моно-

графии "Основы частной цитологии и сравнительной гистологии многоклеточных животных" (1976) подразделяет ткани на типы, подтипы, разновидности и частные системы (клеточные популяции). Взаимная иерархия этих подразделений не ясна и вызывает ряд вопросов.

Построение современной классификации тканей в настоящее время затруднено отсутствием точных данных о месте расположения и природе их конкретных стволовых клеток. Исследования же в этом направлении, по сути дела, только еще начаты.

Лучше всего изучен вопрос для кроветворной ткани. Рядом исследователей доказано, что стволовая клетка ее имеет в целом вид малого лимфоцита. В отношении эпителия кишечника ясно не все. Стволовые клетки тканей кишки, как считают Leblond и его сотрудники (1976), являются источником образования четырех видов эпителиальных клеток: столбчатых, бокаловидных, панетовских и энтероэндокринных. Учитывая однако многочисленные данные о нейроэктодермальном происхождении энтероэндокринных (энтерохромаффинных) клеток (образуемые ими опухоли включаются вместе с меланомами и шванномами в общую группу "нейролоформ"), следует считать, что выводы Леблона требуют существенной поправки (Н.Т.Райхлин и И.М.Кветной, 1977). Не ясен вопрос и с основными тканями, развивающимися из нейроэктодермы. Можно ли считать медуллобласты общими стволовыми клетками для нейронов и глии? Или же ими являются нейробласты и спонгиобласты?

Скорого ответа на все эти вопросы ожидать вряд ли возможно. Выявление стволовых клеток дело сложное. Оно требует постановки специальных опытов с использованием для маркировки клеток хромосомной, иммунологической, цитохимической и  $H^3$ -тимидиновой меток. Только таким путем Н.Г. Хрущову и его сотрудникам удалось показать, что в рыхлой волокнистой соединительной ткани имеются, по-видимому, две популяции фибробластов с собственными стволовыми клетками (Н.Г. Хрущов, 1976).

Много спорных вопросов возникает при выборе терминов, которые рационально применять для систематики тканей. Естественно при этом мы не можем забывать закономерностей общей систематики, так как ткани представляют собой в природе та-

кие же реальности, как виды животных и растений.

Современная систематика различает, кроме основных таксонов (соподчиненных единиц классификации), к которым относятся типы, классы, отряды, семейства, роды и виды, так же промежуточные - например, подтип, надотряд и др. Вид - низшая таксономическая категория так же образует систему соподчиненных единиц, из которых основными являются подвиды и популяции.

Из этого большого числа наименований в генетической системе могут быть использованы далеко не все. Тканевые типы, составляющие основу классификации, мы должны рассматривать как наиболее крупные ее таксоны.

С учетом новых литературных данных и результатов исследований, производимых в течение ряда лет под моим руководством, мною были внесены в таблицу генетически разнородных тканевых типов Н.Г. Хлопина некоторые изменения и уточнения (В.П. Михайлов, 1972, стр. 16-17). Эта таблица представлена здесь в виде схемы для более отчетливого показа таксонов различного соподчинения (рис. 2).

Внизу большим кружком условно обозначен развивающийся зародыш. В нем, примерно на стадии гастролы, независимо от формального расположения в том или ином зародышевом листке, детерминируются клеточные комплексы (зачатки), являющиеся источником развития тканей семи типов. Эти последние показаны в виде нижнего ряда кружков меньшего размера ("Т"). Слева направо они обозначают тканевые типы: энтомезенхимный, ангиодермальный, энтероцелодермальный, миотомный, хордоидный, эпидермальный и нейральный. Схема показывает, что количество конкретных видов тканей ("В") в составе этих основных таксонов разное. Поэтому они не все делятся на подтипы ("ПТ"), а затем и роды ("Р"), которые можно назвать и семействами.

В совместной с Г.С. Катинасом статье, посвященной основным понятиям гистологии (1977), мы писали, что нарушения тканевых дифференцировок, объединяемых понятием "метаплазия", возможны в пределах тканевого типа. Думаю, что в наше определение нужно внести небольшую поправку. Границы метаплазии могут быть ограничены рамками и тканевого подтипа.



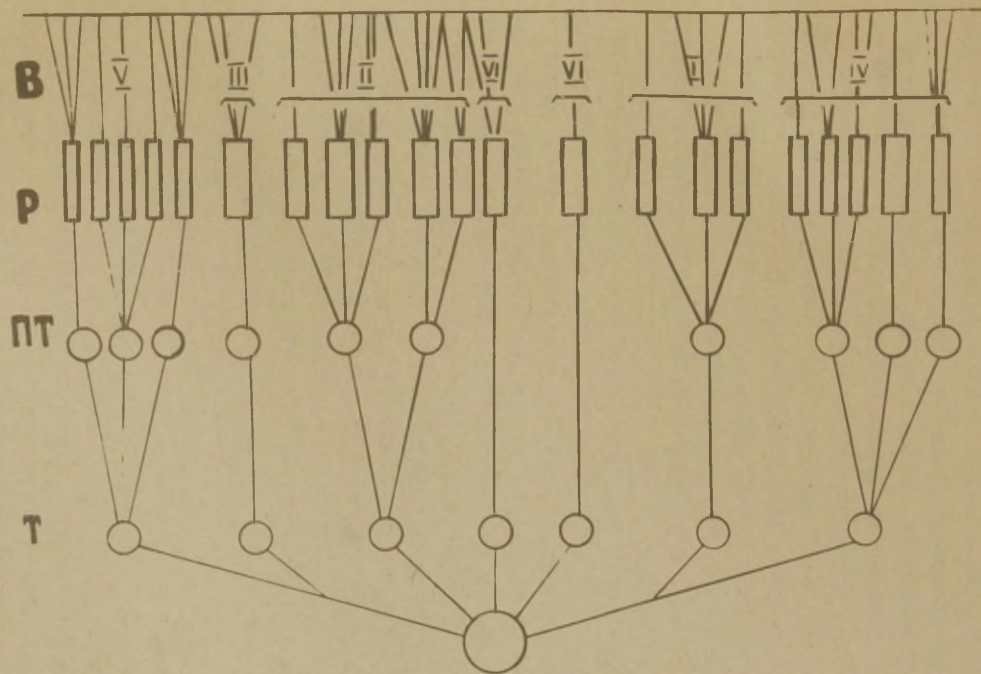


Рис.2. Генетическая система тканей (по Н.Г.Хлопину с некоторыми изменениями и уточнениями).  
По вертикали на схеме выделены таксоны различного соподчинения: Т - тканевые типы;  
ПТ - подтипы; Р и В - роды и виды тканей. Римские цифры обозначают ткани, относя-  
щиеся к одному тканевому типу в ранее опубликованном порядке (Михайлов В.П., 1972,  
с. 16-17). Остальные объяснения в тексте.



На схеме показаны линии дифференцировки отдельных тканей. По отношению к ним рационально использовать понятие "дифферен", которое предложили Vogel, Nievish и Matiolli. Самими авторами он определяется как "интегральная часть любой ткани, способной к самоподдержанию" (1969, с. 249) и, естественно, ее не подменяет. На ленинградской конференции, посвященной общетеоретическим вопросам гистологии (1980) мы с Г.С. Катинасом подчеркнули, что понятия ткань и дифферен "не отождествляются, хотя определенными своими границами и смыкаются" и что "понятие дифферен уточняет одну из сторон определения ткани: принадлежность ее клеток к одной и той же ветви гистогенетического дерева". В известной мере поэтому совпадает понятие "дифферен" с представлением Бара о "гистогенетической ветви".

Для классификации тканей в настоящее время особый интерес приобрели данные иммуноморфологии. Это понятно. Морфологическому становлению тканей и органов предшествует химическая дифференцировка. В результате ее зародыш, начиная примерно со стадии гаструлы, представляет собой "мозаику" химически дифференцированных областей, "детерминированных в каком-нибудь одном или немногих направлениях" (Гексли и де Вер, 1936, с. 422). В настоящее время накоплен большой материал по становлению антигенной структуры органов и тканей на различных этапах онтогенеза. Использовать его, однако, не всегда легко, так как предварительно нужно выяснить, является ли данный антиген органоспецифическим или тканеспецифическим (О.Е. Вязов, 1962 и др.). Лишь по отношению к некоторым морфологическим структурам оба эти термина становятся синонимами (например, хрусталику).

Перспективными поэтому представляются результаты исследований В.В. Окулова и С.А. Кетлинского по использованию тканеспецифических ингибиторов клеточного деления кейлонов в качестве возможных маркеров гистогенезов. В частности, ими была получена специфическая сыворотка на эпидермальный кейлон и с помощью ее выявлены антигены, идентичные кожному в основных эпителиальных тканях эпидермального, по Н.Г. Хлопину, типа (1977). В обзорно-теоретической статье, посвященной ро-

ли кейлонов в тканевом гомеостазе, С.А. Кетлинский правильно пишет о необходимости дальнейшего изучения тканевой специфичности кейлонов с позиций генетической системы тканей. Вместе с тем совершенно нельзя согласиться с ним в том, что "тканевой тип - это ткани, которые поддерживают свой гомеостаз одним кейлоном" (1980, с. 46). Ведь размножение эпителиальных клеток тонкой кишки, желудка и печени (тканей, относящихся к одному, по Н.Г. Хлопину, энтеродермальному типу) регулируется, по крайней мере, тремя кейлонами! Надо полагать, что кейлон регулирует размножение клеток в пределах одного дифферона, то есть внутри тканевого подтипа или даже рода.

Генетическая система тканей, созданная Н.Г. Хлопиным, "проверку временем," прошла, а успехи молекулярной биологии углубили ее основные положения. Это вполне понятно. Если говорить объективно, в лабораториях Н.Г. Хлопина в течение ряда лет производился систематический анализ генетики соматических клеток, разумеется, методами более простыми по сравнению с теми, которыми владеет сейчас молекулярная биология. Вот почему "генетическая система тканей... уже сейчас органически входит в учение о генетике соматических клеток" (В.П. Михайлов, 1973). Вместе с тем и генетика соматических клеток может рассматриваться как раздел биологии тканей, изучающий закономерности, лежащие в основе клеточной дифференцировки и гистогенеза.

#### ЛИТЕРАТУРА

- В я з о в О.Е. Иммунология эмбриогенеза. М., "Медгиз", 1962.  
 К е т л и н с к и й С.А. Арх. анат., 1980, 78, I, 29 - 49.  
 К н о р р е А.Г. В кн.: Тр. лен. общ. анат., гист. и эмбр., в. I, Л., 1969, 75 - 84. - М и х а й л о в В.Н. В кн.: Тез. симп. "Морфология и генетика", Горький, 1973. М., 1973, 27 - 29. - О к у л о в В.Б., К е т л и н с к и й С.А. Арх. анат., 1977, 72, 2, 84 - 87. - Р а й х л и н Н.Т., К в е т н о й И.М. Арх. патол., 1977, 39, 5, 74 - 79. - Х л о п и н Н.Г. В кн.: Сб. памяти акад. А.А. Заварзина. Л., АН СССР, 1948, 313 - 328; Цитология, 1959, I, 5, 486 - 493.

Bard L. Arch. physiol. 7, 1886, 406-420. - Leblond C.a. Cheng H. In: "Stem Cells of Renewing Cell Populations" Acad. Press, N-Y, 1976, 7-31. - Vogel H., Niewisch H. a. Mattioli G. J. Theoret. Biol., 1969, 22, 2, 249-270.

Другие ссылки см. в обзорах: Михайлов В.П. Классификация тканей и явления метаплазии в свете принципа тканевой детерминации (Арх. анат., 1972, 62, 6, 12 - 33) и Михайлов В.П. и Катинас Г.С. Об основных понятиях гистологии (Арх. анат., 1977, 73, 9, II - 26).

## I. ДЕТЕРМИНАЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ТКАНЕЙ

### ЭНДО- И ЭКЗОЦИТОЗ ВО ВРЕМЯ ЛАБИЛЬНОЙ ДЕТЕРМИНАЦИИ КЛЕТОК

Ю.К. Кярнер

Кафедра генетики и цитологии Тартуского  
государственного университета

Согласно новым данным (Nicolet, 1971), энтодерма птиц, как и их мезодерма, обособляется из эпибласта путем инвагинации через первичную полосу. Во время инвагинации клетки лабильно детерминированы, что легко демонстрируется при разных экспериментальных вмешательствах (Gallera, 1971). Кроме того, только инвагинирующие клетки обладают свойствами индуцировать в компетентной эктодерме или новую первичную полосу, или нервную ткань. Хотя по современным представлениям (Toivonen et al., 1976) трансмиссия макромолекул во время эмбриональной индукции является очевидной, цитологические доказательства в этом отношении остаются весьма скудными. В настоящей работе нами характеризуется эндо- и экзоцитотическая активность клеток во время лабильной детерминации на



основе как ультраструктурных и цитохимических исследований, так и измерения поглощения радиоактивного белка.

Изолированные кусочки бластомер курицы на стадиях развития 3 и 4 по Гамбургеру и Гамильтону инкубировались в растворе I25  $\gamma$  овоальбумина (I мкг/мл в среде I99) в течение I часа при температуре 37,5°. После тщательного прополаскивания метку считали с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика Rackbeta (ЛКБ, Швеция), а общий белок определяли по методу Lowry (последняя часть опытов проведена на базе Института химической и биологической физики АН ЭССР). Выяснилось, что во время прохождения первичной полоски клетки обладают наименьшей активностью поглощения экзогенного белка (около 0,5 нг на I мкг зародышевого белка). Непосредственно после обособления эндоцитотическая активность резко возрастает (для дефинитивной энтодермы даже выше 100 нг на I мкг зародышевого белка).

Цитохимическое выявление маркерного фермента лизосом (кислая фосфатаза) обнаруживает повышение их активности на стадии развития 3, что совпадает с началом интенсивной утилизации внутриклеточного белкового желтка (гранулы типа А). При этом наблюдается отторжение частично переваренного желтка с активностью кислой фосфатазы в межклеточное пространство. Такая картина особенно характерна при образовании интерцеллюлярных щелей в глубоких слоях гензенковского узелка. Наряду с этим происходит также частичное отслаивание эктоплазмы, как это описано и на других объектах (Kapeller et al., 1975).

На стадии дефинитивной первичной полоски, а также во время ее регрессии или после эксплантации наблюдается усиленный некроз части клеток. Остальные же охотно фагоцитируют остатки некротических клеток. Следует отметить, что дегенерирующие клетки содержат в огромном количестве разные компоненты цитоплазмы. Такое наблюдение побуждает к более пристальному изучению явления фагоцитоза, чтобы выявить биологический смысл ранней специализации клеток с последующей их дегенерацией.

Итак, инвагинация клеток в первичной полоске сопровож-



дается падением пиноцитотической активности, отторжением частично переваренного желтка с активностью кислой фосфатазы в межклеточное пространство, усиленным некрозом части клеток и их фагоцитозом. Полученные результаты представляют собой цитологические особенности критического периода (по П.Г. Светлову, 1960), характеризующегося высокой повреждаемостью клеток и низкой регулятивной активностью.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Светлов П.Г. В кн.: Вопросы цитологии и общей физиологии. М.-Л., АН СССР, 1960, с. 263-285.
- Gallera J. In: Adv. in Morphogenesis, 1971, 9, p. 150-180. - Kapper M., Plessner Y.M., Doljanec F. Sec. Int. Conf. Diff., Abstracts, Copenhagen, 1975, p. 126. - Nicolet G. Adv. in Morphogenesis, 1971, 9, p. 231-262. - Toivonen S., Tarin D., Saxén L. Differentiation, 1976, 5, p. 49-55.

#### МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕТЕРОГЕННОСТИ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ТКАНЕВОЙ КУЛЬТУРЕ

А.О. Пийрсоо

Кафедра генетики и цитологии Тартуского  
государственного университета

Ряд экспериментальных данных свидетельствует о том, что дифференцировка кроветворных клеток зависит от регулирующего влияния стромы кроветворных органов (Фриденштейн и др., 1973). В то же время имеются работы, показывающие гетерогенность клеток стромы кроветворных органов, в том числе и эмбриональной селезенки (Старостин и Мичурина, 1977).

Настоящая работа предпринята с целью получения новых деталей сведений о морфофизиологии клеток эмбриональной селезенки лабораторных животных с использованием современных методов клеточной биологии (культур тканей, электронной микроскопии, цитохимии).

В изученных культурах идентифицировано 5 типов стромальных клеток: ретикулярные клетки, фибробласты, эндотелиальные клетки, типичные высокодифференцированные макрофаги и макрофаги со многими электронноплотными гранулами.

Если ультраструктура фибробластов в культуре селезенки не отличается от типичных коллагенпродуцирующих соединительных фибробластов, то ретикулярные клетки, которые не окружены фибриллами и волокнами, напоминают больше недифференцированные мезенхимные клетки эмбриональной селезенки, описанные в работах Zamboni, Weistin (1964) и Weiss (1976). Следует отметить, что характеристика термина "ретикулярная клетка" ("ретикулумная клетка") в литературе весьма нечеткая. При его использовании необходимо каждый раз указывать характерные признаки названных клеток.

Нами термин "ретикулярные клетки" применяется именно в отношении тесно располагающихся фибробластоподобных клеток культуры, не окруженных межклеточными фибриллами и волокнами и тем самым четко отличающихся от типичных фибробластов.

Ретикулярные клетки в культуре тесно соприкасаются своими плазматическими мембранами. Они сохраняются в течение всего времени культивирования (1 месяц), причем важным признаком их роста является локальная разобщенность с истинными фибробластами в культуре.

Высокодифференцированные макрофаги растут в культуре разобщенно, и лишь иногда наблюдаются межклеточные контакты макрофагов. Кроме высокодифференцированных, распластанных на стекле макрофагов во многих культурах на фибробластоподобных клетках рассеянно расположены изолированные отростчатые макрофаги, которые обычно на обзорных препаратах трудно отличить от фибробластоподобных клеток, но которые имеют четкие ультраструктурные и гистохимические отличия от последних

(высокая активность гидролаз).

Электронномикроскопически высокодифференцированные макрофаги характеризуются прежде всего наличием большого количества лизосом в их цитоплазме. Можно различать разные типы лизосом: ауто- и гетерофагосомы, остаточные тельца, а также многопузырчатые тельца и миелиновые фигуры. Количество фагосом в ходе культивирования увеличивается.

Значительный интерес представляет изучение макрофагов, имеющих в цитоплазме большое количество азурофильных электронноплотных гранул. Эти клетки расположены обычно в эксплантате, реже они присутствуют в зоне роста. По ультраструктуре они строго отличаются от высокодифференцированных макрофагов тем, что вся их цитоплазма заполнена электронноплотными гранулами, но фагосомы встречаются редко. Только часть этих электронноплотных гранул обладает активностью кислой фосфатазы.

В ходе культивирования количество электронноплотных гранул увеличивается и в больших гранулах происходит образование миелиновых фигур. Мы полагаем, что образование электронноплотных гранул в тканевых культурах отражает специфическую дифференцировку определенного типа клеток стромы - интердигтирующих ретикулярных клеток, которые, по литературным данным (Veerman, van Ewijk, 1975), относятся к системе мононуклеарных фагоцитов.

Важно отметить, что дифференцирующиеся нейтрофильные гранулоциты имеют неслучайные контакты с макрофагами, имеющими электронноплотные гранулы. Можно полагать, что указанные клетки стромы участвуют в образовании микроокружения для дифференцировки нейтрофильных гранулоцитов.

Особенности ультраструктуры, не только наличие данных клеток в интактной селезенке, но и сохранение их в культуре, а также связь макрофагов, содержащих многочисленные электронноплотные гранулы, с клетками из ряда дифференцировки нейтрофильных гранулоцитов позволяют предполагать, что данные клетки образуют самостоятельную популяцию макрофагальных клеток.

Эндотелиальные клетки растут в куль-



туре эпителиоморфно и в виде тяжелой-трабекул. В обоих случаях эндотелиальные клетки соединены друг с другом. Эпителиоморфный рост наблюдается на свободной поверхности стекла, рост в виде тяжелой и трабекул - на подслое фибробластоподобных клеток. В центральном эксплантате гистотипическая структура сосудов сохраняется не более одной недели культивирования. Позже эндотелиальные клетки синусов нельзя отличить от окружающих фибробластоподобных клеток, эндотелиальные клетки артериол теряют свою полярную структуру, а материал базальной мембраны наблюдается на периферии клеток. Это свидетельствует о синтезе эндотелиальными клетками материала базальной мембраны.

Постоянно во многих культурах эмбриональной селезенки встречаются эпителиоморфные пласты клеток. В настоящее время мы не располагаем сведениями о происхождении этих клеток в культуре.

#### ЛИТЕРАТУРА

Старостин В.И., Мичурина Т.В. ВИНТИ. Морфология человека и животных, 1977, 7, 59-110. - Фриденштейн А.Я., Чайлахян Р.К., Лациник Н.В., Панасюк А.Д., Кейлис-Борок Н.В. Пробл. гематол. и перелив. крови, 1973, 18, 14-23. - Veerman A.J.P., van Ewijk W. Cell and Tissue Res., 1975, 156, 417-422. - Weiss L. Anat. Rec., 1976, 186, 161-184. - Zamboni L., Weistin B. J. Ultrastruct. Res., 1964, 11, 469-493.

#### РАЗМНОЖЕНИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРОМАЛЬНЫХ КОЛОНИЕОБРАЗУЮЩИХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И СЕЛЕЗЕНКИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЛИМФОГРАНУЛЕМАТОЗЕ

С.Ф. Рудакова

Отдел исследований комбинированных воздействий НИИ  
медицинской радиологии АМН СССР, Обнинск

В патогенезе лимфогранулематоза (ЛГМ) определенная роль принадлежит бластоидной пролиферации ретикулогистиоцитарных



элементов и реактивной иммунологической пролиферации (Lukes 1966). В основе иммунологических реакций лежит взаимодействие стромальных и иммунокомпетентных клеток; кроме того, клетки стромы формируют специфическое микроокружение для гемопоэтических предшественников и таким образом непосредственно участвуют в регуляции кроветворения. Следовательно, можно ожидать, что при ЛГМ, характеризующимся ранним проявлением иммунологических нарушений, будут наблюдаться изменения стромальной ткани.

Одним из информативных методов исследования стромальной ткани является монослойное культивирование кроветворной и лимфоидной тканей, содержащих малочисленную популяцию клеток, способных к пролиферации и образованию дискретных очагов, состоящих из фибробластоподобных клеток. Колониеобразующие стромальные клетки (КСК) гистогенетически не зависят от кроветворных и лимфоидных клеток, они способны к длительному самоподдержанию, а при трансплантации обладают свойством переносить микроокружение, характерное для того кроветворного органа, из которого они выделены. Разработка методики колонирования клеток кроветворных тканей в монослойных культурах позволяет получить количественные данные о содержании КСК в клеточной взвеси костного мозга, селезенки и т.д. (А.Я. Фриденштейн и соавт., 1970; С.Ф. Рудакова и соавт., 1974).

Нами проведено изучение состояния популяции КСК по результатам монослойного культивирования миело- или спленокариоцитов 150 обследованных (здоровых доноров и больных ЛГМ в разных стадиях заболевания). Указанные исследования позволили установить, что у больных ЛГМ имеется зависимость между тяжестью течения заболевания и эффективностью колониеобразования (ЖО) в монослойных культурах. Так, у доноров, больных в состоянии стойкой клинической ремиссии, больных с благоприятным течением и с быстро прогрессирующим заболеванием ЖО оказалась равной в среднем соответственно 12, 13, 18 и 49, что указывает на высокую степень значимости показателя ЖО в прогностической оценке ЛГМ.

При морфологическом исследовании колонии, формирующие КСК костного мозга здоровых людей и больных в ремиссии, состоят из мелких, однородных, стреловидных, неплотно прилегающих

друг к другу фибробластоподобных клеток; при активном ЛГМ колонии неоднородны по морфологическому составу, характеризуются наличием базофильных фибробластоподобных клеток и крупных многоядерных интенсивно базофильно гистиоцитарных элементов. В культурах костного мозга доноров и больных ЛГМ в стадии клинической ремиссии диаметр колоний составлял 1,17 мм; при активном процессе величина колоний значительно увеличивалась, особенно в группе больных с быстрым прогрессированием заболевания (в среднем 1,84 мм); у здоровых и большинства больных в ремиссии распределение колоний по величине диаметра соответствовало нормальному закону распределения, что свидетельствует о происхождении образующихся колоний из одной популяции КСК. У больных с активно протекающим ЛГМ анализ гистограмм, пробитное преобразование частот и обработка данных по критерию согласия  $\chi^2$  указывают на наличие в костном мозге (по показателю величины диаметра колоний) по меньшей мере двух популяций. Данное заключение подтверждается при исследовании радиочувствительности КСК: в группе клинической ремиссии и у больных с активным лимфогранулематозом величина  $D_{50}$  составляла соответственно 1,26 и 1,70 Гр. Интересно отметить, что при снижении содержания сыворотки в питательной среде (от 20 до 5% ЖО понижалась незначительно, что характерно для опухолевых клеток.

При ЛГМ селезенка часто вовлекается в патологический процесс; однако до последнего времени исследования клеток-предшественников стромальной ткани этого органа не проводились. Поэтому с помощью метода непрерывного насыщения культур *in vitro*  $H^3$ -тимидином была изучена кинетика роста 12-суточных первичных монослойных культур из визуально непокрашенных фрагментов селезенки 12 больных ЛГМ с активным процессом. Во всех случаях отмечалась высокая доля клеток, находящихся в S периоде (от 21,3 до 55,7%). Все изученные культуры обнаруживали высокую долю пролиферирующих клеток; величина пролиферативного пула колебалась от 87 до 99%. Величина времени генерации T в культурах различных больных варьировала в значительных пределах, составляя в среднем 24 часа.

Таким образом, полученные данные о значительной пролифе-

ративной активности клеток-предшественников стромальной ткани костного мозга и селезенки больных ЛГМ в фазе активного процесса, а также изменения функциональных и радиобиологических свойств КСК, морфологического состава колоний свидетельствуют о вовлечении стромальной ткани в болезненный процесс при ЛГМ. Наши результаты согласуются с литературными данными, свидетельствующими о развитии неспецифических изменений в костном мозге, печени, селезенке, почках в виде пролиферации ретикулярной ткани при активном ЛГМ.

## ЛИТЕРАТУРА

Рудакова С.Ф., Масленикова Р.Л., Семина О.В., Рудаков И.А., Поверенный А.М. Бюлл. exper. биол., 1974, II, 99-102.- Фриденштейн А.Я., Чайлахян Р.К., Лалыкина К.С. *Cell and Tissue Kinetics*, 1970, 3, 4, 393-401.- Лукев В. У., Бутлер J.J., Никс S. B. *Cancer*, 1966, 19, 3, 317-344.

## О КУЛЬТИВИРОВАНИИ КЛЕТОК ЭКССУДАТОВ СЕРОЗНЫХ ПОЛОСТЕЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕЙ

К.И. Пыльдвере, А.О. Пийрсоо,  
М.-А.А. Рейнтам, Э.Р. Лепп

Кафедра зоологии и кафедра генетики и цитологии  
Тартуского государственного университета,  
Тартуский онкологический диспансер

Идентификация клеточных типов, проводимая на мазках экссудатов, нередко весьма трудна. Несмотря на успехи В.П. Птохова (1965), Sauter (1971) и других исследователей, культивация экссудатов в диагностических целях не может приоб-



рести полного значения до установления критериев клеточных типов и их роста. Последняя попытка в этом направлении (Stoica, Marinescu, 1977) явно неудачна.

Нами обследовано 64 больных, из них 49 с подтвержденным диагнозом рака. Состав среды: среда № 199 - 70%, аутологическая жидкая бесклеточная фаза экссудата - 30%, антибиотики. Ядерные клетки суспендировали в среде в концентрации  $2 \cdot 10^6$  клеток/мл.

В адгезивной популяции различались следующие клеточные формы.

Гранулоциты распознаются легко. Лимфоциты имеют характерную форму ручного зеркала, реже отмечаются бласты. Эритроциты встречаются лишь на поверхности клеток или фагоцитированными.

Округлые макрофаги имеют несколько неправильных ундулирующих мембран. Распластанные на стекле макрофаги - наиболее многочисленные клетки в культуре. Они отростчатые, диплоидны и имеют выраженные ундулирующие мембраны. Многоядерные гигантские клетки образуются слиянием одноядерных макрофагов.

Клетки, получившие провизорное название полибластов - округлые и нераспластанные клетки, прикрепленные на стекле, слабее макрофагов. Ядро относительно объемистое, может иметь складку, ядрышки (их 1-3) относительно крупные. Скучная цитоплазма базофильна, особые включения отсутствуют. При активации полибласты приобретают нитчатые цитоплазматические отростки и мелкие ундулирующие мембраны. Фибробластоподобные клетки отличаются от макрофагов более светлой цитоплазмой, бедной включениями. В первые дни культивирования эти клетки преимущественно биполярны, на концах отростков ундулирующие мембраны, не столь развитые, как у типичных макрофагов. В более старых культурах фибробластоподобные клетки связываются сетевидно и затем сильно распластываются.

Раковые клетки отличаются ростом в виде эпителиоморфных островков, полиморфизмом и атицизмом. В одном случае получен пыльный рост опухолевых меланоцитов, имеющих вид нагруженных пигментом амебоцитов. Обращают на себя внимание патологичес-

кие изменения ядер, особенно при лечении химиотерапевтическими веществами.

Вопрос о наличии мезотелиальных клеток в культуре остается открытым. Никогда не получено такого роста, какой наблюдается при культивации серозных оболочек.

Внимания заслуживают разные иммунологические феномены межклеточного контактирования в виде образования клеточных комплексов (*clusters*), контактов в виде межклеточных мостиков и пери- и эмпериполез. Отмечено также образование розеток из лимфоцитов и эритроцитов.

По мере культивирования гранулоциты дегенерируют, макрофаги распластываются на стекле и образуют многоядерные клетки. Полибласты превращаются в фибробластоподобные клетки, нередко образующие на стекле густую мембрану.

Таким образом, адгезивная популяция клеток в культуре хорошо классифицируется. Однако гистогенетическая принадлежность полибластов и фибробластоподобных клеток неясная. От роста обыкновенных фибробластов они отличаются более выраженными ундулирующими мембранами, меньшей диплоидностью, а также большей частотой дву- и трехядерных форм. Одна из возможностей заключается в том, что эти клетки получают свое начало от гематогенных предшественников (см. Е.А.Лурия, 1972). Учитывая обилие полибластов в наших культурах, следует допускать, что эти прекурсоры размножались предварительно в экссудате *in vivo*. Другая возможность: фибробластоподобные клетки являются разновидностью ретикулярных клеток. Такие клетки в работе Stuart, Davidson (1970) описаны как типичные ретикулярные клетки. Третья возможность: большинство полибластов и фибробластоподобных клеток происходят от стимулированного мезотелия. Известно, что мезотелий может дать и фибробластоподобный рост. В единственном нами исследованном случае мезотелиомы в экссудате выявлено огромное количество клеток, классифицируемых как полибласты и растущих затем как фибробластоподобные клетки. Однако в исходном материале мезотелий не удалось идентифицировать также по ультраструктурным признакам (микроворсинки).

Большое диагностическое значение имеет рост опухолевых

клеток в культуре. Можно исследовать спонтанные иммунологические реакции, связанные с опухолью. С этой точки зрения следует обратить внимание и на обилие активных макрофагов в карциноматозном экссудате.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Л у р и я Е.А. Кроветворная и лимфоидная ткань в культурах. "Медицина", М., 1972. - П т о х о в М.П. Мат. III научн.конференции памяти акад. А.А. Заварзина. Л., 1965, с. 154. - S a u t e r C. Schw. med. Wschr., 1971, 161, 1245-1247. - S t o i c a E., M a r i n e s c u D. Rev. roum. Morphol. Embryol. Physiol., Morphol.-Embryol., 1977, 23, 271-278. - S t u a r t A.E., D a v i d s o n A. E. J. Path., 1971, 103, 41-47.

#### О ТРАНСДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ТКАНЕЙ ГЛАЗА В ЛЕНТОИДЫ В ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУРАХ

С.А. Вероман

НИИ общей и молекулярной патологии  
Тартуского государственного университета

Под трансдифференциацией понимают превращение дифференцированных (или уже детерминированных в тканевом смысле) клеток одной ткани в дифференцированные клетки другой ткани *in vitro*; трансдифференциацию отождествляют также с метоплазией. Наиболее интенсивно изучается трансдифференциация тканей взрослых или эмбриональных глаз. Лентоиды описаны в культурах диссоциированных клеток эмбриональной линзы, пигментного эпителия и сетчатки плодов человека, эмбрионов курицы и японского перепела (Eguchi a. Okada, 1973; Moscona, 1957; Okada, 1973; Okada, Itoh, Watanabe a. Eguchi, 1975). В этих культурах клетки оторваны от гуморальных, межтканевых и межклеточных влияний целостного организма. Обнаружение лентои-



дов в кусочковых культурах, в которых, в отличие от клеточных культур в некоторой степени сохраняются лишь контакты между клетками, может дать новые данные об условиях возникновения лентоидов. Если в случае линзы и пигментного эпителия о клеточном происхождении лентоидов не возникает сомнений, то клеточное происхождение лентоидов сетчатки нуждается в уточнении.

Кусочки линзы, сетчатки и пигментного эпителия плодов крупного рогатого скота и свиньи выращивались в густке голубиной плазмы на полосках покровных стекол. Культивировали также ретинобластому 2-летнего ребенка, сетчатку взрослого человека и пигментный эпителий 4-9-дневных куриных и 7-14-дневных зародышей индюка. Питательная смесь состояла из сред № 199 или Игла, к которым добавлялась сыворотка крупного рогатого скота (10%) и амниотическая жидкость тех же животных или асцитная жидкость человека (10%) и антибиотики. Эмбриональный пигментный эпителий выращивался в видоизмененной среде для органотипических культур. На тотальных препаратах и полутонких срезах проводилась непрямая реакция по Уэллеру и Кунсу на кристаллины в лентоидах.

Лентоиды - округлые или овальные скопления крупных клеток (от  $9,4 \times 4,7$  до  $58,8 \times 45,7$  мкм) с однородной эозинофильной, иногда вакуолизированной или зернистой цитоплазмой, округлым ядром и с одним ядрышком. По окрашиваемости и размерам они хорошо отличимы от остальных клеток культур. Лентоиды обнаружены в кусочковых культурах эмбрионального хрусталика, сетчатки, ретинобластомы и пигментного эпителия. В культурах незрелой сетчатки выявлены лентоиды, в составе которых присутствовали меченные радиотимидином до культивирования клетки S-фазы или их потомство, что доказывает частичное происхождение этих лентоидов от индифферентных клеток сетчатки. Редкие лентоиды встречались и в культурах ретинобластомы.

Из пигментного эпителия плодов млекопитающих в наших условиях культивирования лентоиды не образовывались. Зато в культурах пигментного эпителия эмбрионов курицы и индюка лентоиды присутствовали редко, но постоянно (в 1-4% зонах

роста). Чаще они возникали в культурах пигментного эпителия фт более молодых эмбрионов, причем они были различимы уже на 1-5-й день культивирования и состояли из 1-15 клеток. В цитоплазме клеток лентоидов иногда встречались комочки меланина, что *in vivo* характерно начальным этапам Вольфовской регенерации. В некоторых зонах роста можно было одновременно наблюдать отдельные очаги образования лентоидов на разных стадиях развития, начиная с одной крупной клетки до внешне малинообразного скопления таких клеток. При дальнейшем развитии культуры лентоиды хорошо выделялись на фоне пигментировавшихся клеток. Отсутствие кристаллинов в наших лентоидах доказывает их тканевую незрелость.

В культивированных в идентичных условиях кусочках сетчатки эмбрионов курицы и индюка с пигментным эпителием до 30-дневного культивирования лентоидов не образовывалось. Не отмечалось лентоидов также в культурах сосудистой оболочки глаза и роговичного и конъюнктивного эпителия.

Из наших данных следует, что в кусочковых культурах линзы, сетчатки плодов и пигментного эпителия эмбрионов без диссоциации и пересевов имеются клетки с потенцией образовывать незрелые лентоиды. Само образование таких лентоидов оценивается как абортивная попытка к регенерации хрусталика *in vitro* в кусочковых культурах.

#### ЛИТЕРАТУРА

- E g u c h i G., O k a d a T. S. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 70, 1973, p. 1495-1499. - M o s c o n A. Science, 125, 1957, p. 598-599. - O k a d a T. S. Develop. Biol., 34, 1973, p. 321-333. - O k a d a T. S., I t o h I., W a t a n a b e K., E g u c h i G. Develop. Biol. 45, 1975, p. 318-329.

## РОСТ И ПРЕВРАЩЕНИЕ ЗУБНЫХ ЗАЧАТКОВ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ

Э.Э. Лейбур

Кафедра стоматологии Тартуского  
государственного университета

Зубной зачаток - сложный орган с незавершенной морфологической дифференцировкой, на котором можно изучать не только условия приживания, но и процессы развития и формирования органа. Исследованию одонтогенеза в культуре ткани посвящен ряд работ (Э.Э. Лейбур, 1979; S. Glasstone, 1965; I.V. Rush и соавт., 1973 и др.). Установлено (W.E. Koch, 1970), что морфогенез зуба обусловлен серией взаимодействий между эпителием эмалевого органа и зубным сосочком.

Нами поставлена задача, изучить в культуре ткани рост и превращение эмбриональных зубных зачатков и, в частности, дифференциации одонтобластов и амелобластов в различные сроки культивирования.

Объектом наших исследований служили зубные зачатки плодов свиньи в возрасте 1,5 месяцев и зародышей мыши в возрасте от 15 до 19 дней. После соответствующей обработки в строгих асептических условиях обнаруживались зачатки, которые извлекались из челюстей и переносились в чашки Петри в раствор Ханкса. На миллипорные фильтры площадью 0,36 см<sup>2</sup> высаживали зубные зачатки или их кусочки. Культуральной жидкостью служили 75-80% среды I99; 15% бычьей сыворотки; 4 мг/мл глюкозы; 0,07 мг/мл аскорбиновой кислоты, 5-10% свиной или мышиной амниотической жидкости, по 100 ЕД/мл пенициллина и стрептомицина. Смену среды производили через 48-72 часа. Длительность культивирования 28 дней. Культуры фиксировали в разные сроки после эксплантации по Буэну, серийные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Мукополисахариды выявляли по Моури.

При морфологическом исследовании отмечено дальнейшее развитие зачатков, которые хорошо сформированы и имеют выраженную структуру. В зубных зачатках плодов свиньи через 3 дня обнаружены все слои эмалевого органа, клетки внутренне-



го эпителия цилиндрические. Клетки наружного слоя эмалевого органа образовывали эпителиоморфные зоны роста. Фибробластическая миграция начиналась на 4-ый день. Митозы отмечались со второго дня культивирования в слое преамелобластов.

Через 8 дней культивирования четко определялся слой преддентина и одонтобластов. Клетки промежуточного слоя дифференцированы. В слое амелобластов наблюдались контуры отростков, содержащих гранулы нейтральных мукополисахаридов (МПС).

Через 12-15 дней после эксплантации тканевая культура несколько увеличивалась в объеме. Амелобласты располагались упорядоченно, дентин сформирован. Формирование дентина сопровождалось накоплением в нем и в слое одонтобластов нейтральных МПС. К концу культивирования через 28 дней в наружном слое эпителия эмалевого органа обнаружено ороговение, пульпа эмалевого органа дегенерирована, амелобласты располагались упорядоченно и продуцировали эмаль. Образовался слой эмали с четкой эмалево-дентинной границей. Слой дентина хорошо сформирован и широк, содержит нейтральные МПС.

Зубные зачатки зародышей мыши культивировали 12 дней. На 3-й день зачатки первого моляра приобретали вид колпачков, внутренний эпителий становился цилиндрическим. Наружную поверхность колпачка покрывали мелкие клетки наружного эпителия, которые образовывали эпителиоморфные зоны роста. На 8-й день определялся слой амелобластов упорядоченной ориентации с базальными ядрами. В контрольных препаратах они располагались беспорядочно. На 12-й день в наружном слое эпителия эмалевого органа обнаружено ороговение, эмалевый орган дегенерирован, амелобласты продуцировали эмаль. Слой дентина хорошо сформирован.

Морфологические исследования показали, что развитие зубных зачатков в тканевой культуре происходило на 4-5 дней медленнее, чем *in vivo*. По М.Р.Нау (1961), 10-й день развития зубных зачатков мыши *in vivo* соответствует 6-му дню развития *in vitro*. В некоторых случаях зубные зачатки и части их развивались и превращались в зрелые органы зуба.

Морфологическое исследование указывает на наличие тесных взаимоотношений между эпителиальной и мезенхимальной

частями тканей в зубных зачатках, так как дифференциация зубных тканей сопровождается накоплением в них нейтральных МК.

Итак, зубной зачаток - самодифференцированный орган, т.е. в зубном зачатке заложены морфогенетические основы, которые не зависят от действия окружающих их тканей. Эмалевый орган является контрольным фактором, от которого зависит, развивается из зачатка моляр или инцизив.

## ЛИТЕРАТУРА

Лейбур Э.Э. В кн.: Актуальные вопросы стоматологии. Материалы IX Республиканской конференции стоматологов ЭССР, Таллин, 1979, 93-96. - G l a s s t o n e, S. Cells and tissues in culture by E.W. Willmer. New York, London, 1965, 273-283. - Н а у М. Р. Archives of oral Biology, 1961, 3, 86-108. - К о с h W. E. Exper. Zool. (Philadelphia), 1970, 161, 151-170. - Р u c h I. V., К а р с h e r - D j a r i c i e V, Г о г б е г R. Biol. Висс., 1973, 1, 1, 45-56.

## ФАГОЦИТАРНЫЕ СВОЙСТВА НЕЙРОГЛИИ

Г.В. Коновалов, Е.И. Чумасов

Лаборатория нормальной и патологической морфологии  
нервной системы Института экспериментальной  
медицины АМН СССР, Ленинград

До сих пор широко обсуждается вопрос о том, какие элементы нервной системы обладают фагоцитарными свойствами. По этой проблеме существует различные точки зрения, нередко резко отличающиеся друг от друга (Ю.М. Жаботинский, 1978).

Настоящее сообщение посвящено обсуждению имеющихся в литературе данных и фактического материала, накопленного в нашей лаборатории при изучении фагоцитарных свойств различных клеток нервной системы при демиелинизирующих заболеваниях иммунопатологической и вирусной природы, нейроинфекциях, а также при аутотрансплантации чувствительных ганглиев.

Характерные особенности нервной ткани (наличие в ЦНС гемато-энцефалического, а в ПНС - гемато-нервного и нервно-тканевых барьеров, высокоспециализированных клеток нейроктодермальной природы) определяют своеобразие в проявлении фагоцитарных реакций в этой системе организма.

Анализ приводимого материала показывает, что основными фагоцитирующими элементами в ЦНС являются микроглиоциты. Эти клетки чаще других принимают участие в истинной нейрофагии, проявляют высокую фагоцитарную активность при всех исследуемых нами патологических процессах в ЦНС. На основании автораддиографических, иммунологических и биохимических исследований, тестов с прилипанием клеток к поверхности стекла установлено, что реактивные элементы микроглии имеют гематогенное происхождение. Так, внутривенное введение меченых тимидином перитонеальных макрофагов экспериментальным животным обнаружило появление в ЦНС меченых элементов микроглии.

Нерешенным остается вопрос о происхождении резидуальных микроглиоцитов. Автораддиографические исследования с меченым тимидином и опыты с использованием антимоноцитарных сывороток не подтвердили их происхождение из мононуклеаров. Однако не исключено, что эти элементы проникают в ЦНС в эмбриональном и раннем постнатальном периодах и превращаются в стационарные формы нейроглии, отличаясь от реактивных форм составом содержащихся в них ферментов.

Прежние данные авторов о трансформации микроглиоцитов из лимфоцитов оказались ошибочными. Эти представления были связаны с большими трудностями, возникшими при установлении типа клеток предшественников. Присутствие лимфоцитов в участках поврежденной нервной ткани, в которых число микроглиальных клеток почти постоянно увеличено, как и резкое нарастание числа микроглиоцитов в злокачественных лимфомах,



не может служить основанием для признания возникновения реактивной микроглии из лимфоцитов.

По мнению Oehmichen (1978), к мононуклеарным фагоцитам относятся также перициты сосудов головного мозга, макрофаги мягких мозговых оболочек и элементы сосудистого сплетения желудочков, что подтверждается и нашими наблюдениями. Согласно классификации Parth van et al. (1972), эти элементы должны быть причислены к профессиональным фагоцитам; они несут на своей поверхности рецепторы к иммуноглобулинам и комплементу. Наряду с этим фагоцитарную функцию в нервной системе выполняют также элементы астроцитарного ряда, макрофагальные свойства которых хорошо прослеживаются при различной деструкции нервной ткани, в частности при уоллеровской дегенерации в зрительном нерве, при разрушении синапсов, а также вирусной демиелинизации (энцефаломиелит, вызываемый ЖМ штаммом вирусов мышинного гепатита). Некоторые авторы полагают, что фагоцитирующие астроциты дедифференцируются до астробластов и даже глиобластов. Однако это мнение нами не разделяется.

В отношении фагоцитарных свойств олигодендроглии существуют довольно противоречивые суждения. Хотя при периаксональном демиелинизирующем процессе в гипертрофированных телах этих клеток действительно часто содержатся продукты распада миелина, но возникновение в цитоплазме дегенеративных изменений говорит против их фагоцитарной функции. Определенное мнение складывается в отношении фагоцитарных свойств лимфоцитов и сателлитов в ЦНС. Эти явления выражены отчетливо при уоллеровской дегенерации нервных волокон и в чувствительных ганглиях при нейронофагии в последних. Электронно-микроскопические исследования позволили проследить последовательные этапы нейронофагии аутотрансплантированных нейронов спинно-мозговых узлов многочисленными отростками сателлитов, интенсивно захватывающими кусочки некробиотически измененной цитоплазмы (Е.И. Чумасов, Н.И. Чалисова, 1979). При демиелинизации у животных с экспериментальным аллергическим полиневритом и в культуре чувствительных ганглиев под воздействием их сывороток фагоцитоз продуктов распада реактивно

измененными лейкоцитами происходит одинаково (Г.В. Коновалов, О.А. Родштейн, 1977). Аналогичные процессы наблюдаются и при классической форме болезни Марекса.

#### ЛИТЕРАТУРА

Жаботинский Ю.М. Арх. пат., 1978, в. 4, с. 70-78.  
- Коновалов Г.В., Родштейн О.А. В кн.: Культура нервной ткани. М., 1977, гл.III, с. 128-166. - Чумасов Е.И., Чалисова Н.И. В кн.: Сенсорные системы. Л., 1979, с. 149-165. F u r t h R. van et al. Bull.Wld. Hlth. Org., 1972, 46, p. 486-552. - О е н м и с х е н М. Mononuclear phagocytes in central nervous system. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New-York, 1978.

#### О РЕАТИВНЫХ ГЕТЕРОТОПИЧЕСКИХ ДИФФЕРЕНЦИРОВКАХ ТКАНЕЙ ЛЕГКИХ

А.Г. Бобков

Лаборатория патоморфологии ВНИИ  
пульмонологии МЗ СССР, Ленинград

Ткани легкого в условиях патологии нередко образуют реактивные гетеротопические структуры. К наиболее известным из них относится эпидермоидная метаплазия бронхиального эпителия, которая наблюдается обычно при воспалении, авитаминозе А, малигнизации. Плоскоклеточные пласты могут возникать *in situ* (например, при бронхите) и в процессе экстраканаликулярного роста (например, при эпителизации абсцесса легкого). Многослойный плоский эпителий образуется в основном за счет пролиферации базальных и промежуточных клеток.

В.Г. Гаршин (1939) связывал изменения эпителия с изменением состояния подлежащей соединительной ткани, рассматривая такую корреляцию как одну из биологических закономерностей

фей. Следует, однако, признать, что она не исключает химического воздействия на эпителий определенных веществ, о чем еще в начале нашего века много писали, главным образом, германские патологи. Во-первых, это следует из отсутствия четкого параллелизма между пролиферацией и метаплазией эпителия, с одной стороны, и степенью морфологических изменений подлежащей соединительной ткани (например, при воспалении), с другой. Во-вторых, некоторые вещества, например канцерогенные углеводороды, обладают свойством стимулировать эпидермоидную метаплазию разрастаний эпителия.

Следует заметить, что эпидермоидная метаплазия является обратимой и не исключает возвращения бронхиального эпителия в его исходное состояние после ликвидации вызвавшей ее причины. Так, в ходе биологического заживления хронического абсцесса легкого выстилающий его эпителий может вновь дифференцироваться в многорядный мерцательный. Гетеротопии бронхиального эпителия иногда встречаются в выстилке альвеол, непосредственно прилегающих к мелким бронхам и бронхиолам, например при диффузном легочном фиброзе (болезни Хаммана-Рича). По-видимому, они объясняются наполнением бронхиального (гевр. бронхиолярного) эпителия из мелких бронхов - через каналы Ламберта, из респираторных бронхиол - через устья открывающихся в них альвеол.

В бронхиальных железах и в покровном эпителии бронхов встречаются своеобразные крупные клетки с эозинофильной зернистостью в цитоплазме, описанные под разными названиями (см. Breeze, Wheeldon). Чаще всего их называют онкоцитами. Они обнаруживаются при хронических заболеваниях и в нормальных легких, а также в других органах (слюнных железах, щитовидной железе и др.). Могут встречаться в опухолях. Бытующее мнение, согласно которому онкоциты представляют инволютивную форму клеток, не может считаться доказанным.

Микрокарциноиды легких (И.В. Двораковская, А.Г. Бобков, 1978) встречаются в виде мелких гнезд несколько полиморфных клеток, в цитоплазме которых выявляется аргирофильная, реже аргентаффинная зернистость. По современным представлениям, микрокарциноиды представляют собой очаги гиперплазии рассе-



нных клеток, осуществляющих эндокринную функцию и относящихся к APUD-системе. Pearse и Polak (1971) считают APUD-клетки производными нервного гребешка эмбриона, мигрирующими в разные органы. С их концепцией согласуется отсутствие связи между микрокарциноидами и какой-либо определенной структурой легкого (гистотопография их различна). Кроме того, иногда выявляются участки, состоящие из резко удлинённых клеток, образующих "невральные" вихревые фигуры и псевдорозетки.

При склеротических процессах в легких нередко находят пучки гладких мышц в соединительной ткани перибронхия, стенок альвеол и даже в соединительной ткани, заполнившей просвет альвеол при карнификации. Такие гетеротопии называют мышечным склерозом и считают, что они образуются из фибробластов в результате тканевой адаптации к растяжениям при дыхательных экскурсиях легкого.

В хрящевых пластинках бронхов нередко обнаруживаются очаги оссификации. Им предшествует дистрофическое обызвествление, которое, по-видимому, индуцирует дифференцировку клеток, проникающих в хрящ из перихондрия, в остеобласты и в элементы костного мозга.

Изредка гетеротопии хряща наблюдаются в стенке легочных сосудов. Мы находили их в культе легочной артерии после резекции доли легкого у собаки и в расширенной, склерозированной ветви бронхиальной артерии при бронхоэктазах у человека. Можно полагать, что хондронидная трансформация соединительной ткани в сосудистой стенке осуществляется за счет фибробластов и накопления кислых мукополисахаридов при дистрофическом процессе.

Приведенные наблюдения свидетельствуют о пластичности дифференцировки тканей легких, однако пределы изменчивости ограничены гистогенетическими потенциями тканевых типов.

#### ЛИТЕРАТУРА

Г а р ш и н В.Г. Воспалительные разрастания эпителия, их биологическое значение и отношение к проблеме рака. М.-Л., 1939. - Д в о р а к о в с к а я И.В., Б о б к о в А.Г.

Арх. патол. (Москва), 1978, 8, с. 21-25. - B r e e z e R. G., W h e e l d o n E. B. Amer. Rev. Resp. Dis., 116, 4, p. 705-777. - P e a r c e A. G.E., P o l a k J. M. Gut, 1971, 12, 10, p. 783-788.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГЕПАТОМ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ИХ ПРОГРЕССИИ

И.Я. Эльвест

Лаборатория морфологии Института экспериментальной  
и клинической медицины МЗ ЭССР, Таллин

Гистологическому анализу подвергались индуцированные и спонтанные гепатомы мышей  $C_3H$ а обоего пола. Для индукции гепатом применялись нитрозодиэтиламин (с питьевой водой, либо в виде внутрибрюшинных инъекций), четыреххлористый углерод (внутрибрюшинные инъекции) и их комбинированное действие. Мышей с гепатоцеллюлярными опухолями было всего 207. У большинства мышей опухоли были мультицентричными. Они находились на разных стадиях опухолевой прогрессии. Для сравнения использовалась трансплантируемая гепатома 22а, пассируемая на этой же линии мышей.

Тканевый материал фиксировался в 10%-ном нейтральном формалине или в жидкости Лилли и заливался в парафин. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином, а также по Бреше, для выявления гликогена применялась PAS-реакция.

При гистологическом анализе материала отмечалось следующее. Микроскопические узелки в ткани печени, которые обычно принято называть гиперпластическими узелками, по своей структуре солидные, с гомогенным клеточным составом. Процесс со-

зревания клеток в этих узелках не прослеживается. Зато хорошо развитые гепатомы мышей с экспансивным ростом морфологически гетерогенны. Эти опухоли характеризуются дольчатостью структуры. Дольки опухоли похожи на структурную единицу печени по Раппапорту. Их ось образована сосудом. Вокруг сосуда зона базофильных, богатых РНК клеток, которые образуют зону пролиферации. Эта зона переходит в зону созревания клеток. Созревание выражается в появлении морфологических признаков участия этих клеток в углеводном, жировом, белковом и водном обменах. В то же время эти признаки указывают на определенные отклонения в деятельности клетки. Соответственно созревающие клетки либо переполнены гликогеном, вакуолизированы из-за накопления в них липидов, содержат эозинофильные гиалиновые (белковые) включения или кажутся пустыми ввиду гидропической вакуолизации. Все эти морфологические проявления в определенной степени похожи на морфологическую картину соответствующих дистрофий клеток неопухоловой ткани печени. Некоторые типы таких гепатом получили специальные названия; например, гепатому при массивной гидропической вакуолизации ее клеток принято называть пустоклеточной аденомой.

В гепатомах, при которых проявляются признаки деструктирующего роста и могут встречаться отдаленные метастазы, клетки утрачивают способность накапливать гликоген и липиды, в них не содержится гиалиновых включений типа Маллори и они не подвергаются гидропической вакуолизации. Отходящие от сосуда клеточные тяжи на периферии дольки без признаков "дистрофии" переходят в коагуляционный некроз. Однако определенная зональность структуры и процесс дифференцировки клеток сохраняются: образованные клетками структуры (трабекулы, тубулы) на периферии дольки более четкие (зрелые), чем около сосуда. Зато в солидных узлах перевиваемой асцитной гепатомы, представляющей, по-видимому, конечную стадию прогрессии гепатоцеллюлярных опухолей, морфогенетические потенции как выражение гистотипической дифференцировки отсутствуют.

Таким образом, механизмы, обеспечивающие дифференцировку клеток паренхимы печени при опухолевой трансформации этих клеток, могут не утрачиваться. Однако в их деятельности об-



наруживается дефект. Этот дефект, выражающийся в неполноценном созревании клеток, затрагивает, по-видимому, в первую очередь специфические функции гепатоцита. В процессе опухолевой прогрессии дефект созревания усугубляется и, хотя морфогенетические потенции сохраняются долго, к концу прогрессии механизмы, обеспечивающие дифференцировку клеток печени, существенно утрачиваются.

В последнее время подчеркивается роль стволовых клеток в канцерогенезе, например в кишечнике (К.М. Пожарисский и др., 1977). Относительно печени до сих пор допускают, что из любого гепатоцита может возникнуть опухоль (Emmelot, P., 1971). Вероятно, что морфологические проявления дефектного созревания и тем самым морфологический характер гепатомы зависят от того, в какой степени детерминирована трансформированная клетка (стволовая клетка, клетка-предшественник). Такая закономерность отмечена при анализе опухолей легких (Н.Т. Райхлин, 1979). С этой точки зрения гистогенез гепатоцеллюлярных опухолей требует углубленного исследования.

#### ЛИТЕРАТУРА

- П о ж а р и с с к и й К.М., К л и м а ш е в с к и й В.Ф.,  
Г у щ и н В.А., О к у л о в В.Б. В сб.: Роль стволовых  
клеток в лейкозо- и канцерогенезе. Киев, 1977, с. 21-24.  
Р а й х л и н Н.Т. - Арх. пат., 1979, II, с. 3-13. - E m -  
m e l o t , P. In: Liver Cancer. IARC Scientific Publications.  
Lyon, 1, 1971, p. 94-109.

# ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ЦИКЛИЧЕСКИХ МОНОНУКЛЕОТИДОВ НА ДИФФЕРЕНЦИАЦИЮ ГЕНЗЕНОВСКОГО УЗЕЛКА КУРИНОГО ЭМБРИОНА

Т.Э. Неуман, Т.А. Лаасберг

Институт химической и биологической физики АН  
ЭССР, Таллин

Универсальная роль циклических нуклеотидов в регуляции клеточной деятельности не вызывает сомнений. Однако неясным остается их роль в детерминации и дифференциации клеток в раннем эмбриогенезе. Хотя и показано, что удлинение первичной полоски в бластодерме курицы зависит от импульсов 3', 5'-аденозинмонофосфата (цАМФ; Robertson a. Gingle, 1979), более детальные исследования об их участии в раннем развитии отсутствуют. Хорошей моделью для изучения данного вопроса является гензеновский узелок, из которого *in vitro* развиваются многие клеточные типы.

В настоящей работе исследовано влияние цГМФ (3', 5'-гуанозинмонофосфата), как антагониста цАМФ на процессы дифференциации клеток гензеновского узелка. Использованы куриные зародыши на стадиях развития 3, 4, 5 по Гамбургеру и Гамилтону. Кусочки гензеновского узелка (0,2 x 0,2 мм) эксплантировались на фильтрах (Синпор с диаметром пор 0,86) в среде, состоящей из 3 частей среды Игла и I части содержимого целого яйца. Всего совершено 186 эксплантаций, из которых 81 являлась контрольной. Концентрация циклических нуклеотидов составляла 0,5 - 2 мМ, время действия варьировали от I до 20 часов. Для гистологического исследования препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Значимость полученных результатов проверена по тесту Стьюдента.

Для электронномикроскопического анализа гензеновские узелки после культивирования в течение 2,5 или 5 часов в среде с циклическими нуклеотидами или без них фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида, забуференного какодилатом (рН 7,4), и в 1%-ном растворе тетраоксида осмия. Препараты обезвоживали и заключали в Эпон 812. Ультратонкие срезы конт-

растировали 2%-ным раствором ацетата уранила в 50%-ном этаноле и цитратом свинца.

Нами показано, что в исследованных условиях эксплантации доля хордальной и нейральной тканей, образующихся из гензеновского узелка, зависит от стадии развития (см. табл.). Установлено, что в концентрации 0,5 мМ цГМФ подавляет образование хордальной ткани, причем степень уменьшения зависит от стадии развития и от времени действия цГМФ (табл.). Концентрации в 1 и 2 мМ цГМФ полностью блокируют хордальную дифференцировку и уменьшают степень нейральной дифференцировки в два раза.

Т а б л и ц а  
Влияние цГМФ на развитие хордальной и нейральной  
тканей в эксплантатах гензеновского узелка

Стадия развития	Время действия цГМФ, час	Концентрация цГМФ, мм	Число хордальной и нейральной тканей в эксплантатах, %	
			хордальная ткань	нейральная ткань
Контроль				
3			9	55
4			77	90
5			80	96
Эксперимент				
3	5	0,5	-	37
4	5	0,5	23	88
5	5	0,5	35	97
4	1,5	0,5	78	100
4	20	0,5	21	86
4	5	1	-	30
4	5	2	-	40

Отличительным признаком кратковременного (2,5 и 5 часов) воздействия цГМФ на уровне ультраструктур следует признать уменьшение объема межклеточных щелей в глубоких слоях гензе-



новского узелка, в то время как ЦАМФ не вызывает изменений ультраструктуры по сравнению с контролем.

Результаты настоящей работы указывают на то, что дифференцировка хордальной ткани и нейральная индукция - процессы, не связанные между собой. На каком же этапе хордальной дифференцировки действует ЦГМФ?

В качестве рабочей гипотезы можно предположить, что образование хордальной ткани начинается после накопления определенного количества детерминированных клеток ("закон критической массы"). Процесс детерминации (индукции), по-видимому, и является "мишенью" для ЦГМФ. Учитывая, что индукция происходит только на определенной стадии клеточного цикла, можно предположить, что ЦГМФ нарушает прямо процесс индукции и/или ЦГМФ влияет на клеточный цикл.

#### ЛИТЕРАТУРА

Robertson A., Gingle A. J. *Embr. exp. Morph.*, 1979, 53, 353-365.

#### ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КЛЕТОК КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ *SAGITTA* *ELEGANS ELEGANS* (VERRILL, 1873) (*CHAETOGNATHA*)

В.Л. Мишин

Лаборатория цитологии Мурманского морского  
биологического института КФ АН СССР, Дальние Зеленцы

Баренцевоморская сагитта (*Sagitta elegans*) - морской планктонный хищник - относится к надтипу щетинкочелюстных (*Chaetognatha*). Щетинкочелюстные имеют большой удельный вес в зоопланктоне и являются промежуточным звеном в пищевой цепи гидробионтов. *S. elegans* питаются зоопланктоном (в основном, ракообразными) (Миронов, 1960) и поэтому имеют зна-

чение как конкуренты планктоноядных рыб; с другой стороны, многие рыбы питаются сагиттами.

Цель работы - изучение эколого-морфологических приспособлений в тканевой организации сагитт в связи с их подвижным, хищным образом жизни.

Сбор материала проводили с экспедиционного судна. Район отлова - восточная часть Баренцева моря.

Животных фиксировали целиком в жидкостях Буэна, Саномия и в 4%-ном растворе формалина. Материал заливали в парафин. Срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином-эозином, бромфеноловым синим ( $pH = 6,4$ ), с помощью ПАС-реакции и суданом IV.

Половозрелые особи баренцевоморской *S. elegans* имеют размеры 30-35 мм. Существенных различий в строении кишечного эпителия сагитт на протяжении их жизненного цикла не обнаружено.

Пищеварительный тракт *S. elegans* можно условно разделить на окологротовую область, глотку, передний, средний и терминальный отделы. В различных отделах стенка пищеварительного тракта выполнена либо цилиндрическим, либо кубическим эпителием, расположенным на тонкой базальной мембране, к которой прилегает узкий слой продольных мышечных волокон. В составе кишечного эпителия идентифицированы секреторные (зимогенные), вакуолизированные и всасывающие клетки.

В окологротовой области, глотке и переднем отделе пищеварительной трубки локализованы преимущественно секреторные клетки, что соответствует функции этих участков кишечника - синтез и выделение пищеварительных ферментов. Морфологическая специализация секреторных клеток четко выражена: апикальный отдел заполнен крупными (от 2 до 6 мкм) зимогенными гранулами, ядро локализовано в базальной части. Относительный объем белоксодержащих клеток составляет  $200 \pm 20$ , а ядерно-цитоплазматическое отношение -  $0,12 \pm 0,03$ .

В среднем отделе кишечника расположены секреторные и вакуолизированные клетки. В базальном отделе вакуолизированных клеток находится ядро, окруженное узким базофильным ободком цитоплазмы, остальная часть цитоплазмы заполнена вакуолью.

Эти клетки - самые крупные в эпителии пищеварительного тракта (относительный объем до  $1000 \pm 80$ ); ядерно-цитоплазматическое отношение низкое ( $0,04 \pm 0,01$ ). По-видимому, вакуолизированные клетки являются наиболее высокодифференцированными в пищеварительном тракте сагитты.

Терминальная часть кишечной трубки выполнена кубическими и цилиндрическими клетками (относительный объем -  $160 \pm 30$ ; ядерно-цитоплазматическое отношение -  $0,20 \pm 0,04$ ). Основная функция этого отдела - всасывание.

Кроме дифференциации клеток кишечного эпителия в каудальном направлении, наблюдается определенный градиент их локализации по дорсо-вентральной оси. В дорсальном и вентральном отделах пищеварительного тракта расположены наиболее мелкие (относительный объем -  $120 \pm 20$ ), кубические клетки с плотной базофильной цитоплазмой; ядерно-цитоплазматическое отношение высокое ( $0,25 \pm 0,04$ ). По-видимому, это малодифференцированные клетки, которые можно рассматривать как резервные. Высочайшие специализированные клетки (секреторные, вакуолизированные и всасывающие) примыкают к малодифференцированным и локализованы в латеральных отделах пищеварительной трубки. В передних отделах пищеварительного тракта малодифференцированные клетки способны, очевидно, дифференцироваться в секреторные, а в терминальном участке - во всасывающие. В среднем отделе обновление кишечного эпителия может происходить иным путем. Учитывая данные морфометрического анализа и локализацию клеток по дорсо-вентральной оси, можно предположить, что камбиальные элементы первоначально дифференцируются в секреторные клетки. Последние на поздних стадиях онтогенеза теряют способность к синтезу зимогенных гранул и образуют популяцию вакуолизированных клеток. Впоследствии вакуолизированные клетки разрушаются и экстрагируются в полость пищеварительного тракта.

Таким образом, специализации клеток по дорсо-вентральной оси в пищеварительном тракте *S. elegans* связана, главным образом, с особенностями обновления кишечного эпителия. Учитывая, что при питании ракообразными кишечник сагитт может значительно повреждаться, существование резервного фонда



клеток представляется весьма важным.

## ЛИТЕРАТУРА

М и р о н о в Г.Н. В кн.: Тр. Севастоп. биол.ст., 1960, 13, с. 78-88.

## II. РЕПАРАТИВНЫЙ ГИСТОГЕНЕЗ И ЕГО РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

### К ИЗУЧЕНИЮ РЕПАРАТИВНОЙ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ И СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ У ОДНИХ И ТЕХ ЖЕ ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ

Ю.Э. Аренд, А.Ю. Труупыльд

Кафедра анатомии и гистологии, кафедра патологической анатомии и судебной медицины Тартуского государственного университета

В последние годы сотрудниками кафедр гистологии и патологической анатомии и НИИ общей и молекулярной патологии ТТУ предпринята попытка создания экспериментальной модели, позволяющей дать комплексную оценку состояния репродукции клеток различных тканей. Хорошо известно, что от способности и конкретных возможностей тканей к возобновлению своего клеточного состава зависит обеспечение тканевого гомеостаза как в нормальных, так и в патологических условиях. Следовательно, проблема не ограничивается необходимостью определения только состояния физиологической регенерации тканей в возможно большем числе органов, но распространяется также на необходимость параллельного изучения репаративной и физиологической регенерации различных тканей. О такого рода экспериментальных моделях сведения в доступной нам литературе отсутствуют. Вместе с тем модель имела бы большое теоретическое и практическое значение при изучении воздействия раз-

личных факторов, например ингибиторов и стимуляторов роста, на тканевый гомеостаз в целостном организме.

Для комплексного изучения репарации различных тканей у одних и тех же животных необходимо одновременное применение, т.е. объединение экспериментальных моделей, разработанных для выяснения репаративного восстановления каких-то отдельных объектов. Нашей исследовательской группой для этой цели использованы две модели: репарация коркового вещества в билатерально энуклеированных надпочечниках и организующаяся рана печени у белых крыс.

После энуклеации надпочечника крысы, т.е. вылушивания основной массы паренхимы органа через разрез капсулы, имеет место истинная репаративная регенерация коркового вещества. При таком повреждении под капсулой надпочечника остаются небольшие островки адренокортикальной ткани, которые и служат источником репаративного восстановления коры органа в относительно короткий срок. Данная модель была предложена для изучения репарации коры надпочечника более 40 лет тому назад (*Ingle a. Higgins, 1938*), хорошо изучена рядом исследователей (*Greep a. Deane, 1948; Chester Jones a. Spalding, 1954; Crane a. Ingle, 1965* и др.) и в настоящее время является превосходной экспериментальной моделью для изучения репаративной регенерации не только железистого эпителия, но и эндокринной железы как органа.

Весьма хорошей моделью, позволяющей четко судить о динамике регенерации соединительной ткани, служит организующаяся рана печени. После нанесения термического ожога очаг некроза в печени подвергается организации в стерильных условиях, причем, благодаря четким границам пояса развивающейся соединительной ткани, возможно применение точных количественных критериев для характеристики восстановительного процесса. Эта модель предложена в 1927 году Б. Малышевым, подробно изучена *Higgins a. Murphy (1930)* и другими, а в Тарту нашла широкое применение в экспериментальных исследованиях представителей школы проф. А.О. Вальдеса.

В наших опытах комбинированное повреждение (ожог печени + энуклеация надпочечников) проведено у одних и тех же под-

опытных животных (взрослых белых крыс) в ходе двух последующих одна за другой операций. Материал для исследования фиксировался в разные сроки (от I до 30 суток) после операций и исследовался с применением количественных методов для определения объема восстановленных тканей, митотической активности клеток и интенсивности синтеза ДНК.

При наличии в организме двух или нескольких очагов повреждения проблемой номер один является вопрос: какое взаимное воздействие они оказывают на ход восстановительных процессов. Следовательно, в работе нашего коллектива надо было выяснить, как операция с нанесением ожога печени влияет на репаративную регенерацию коры энуклеированных надпочечников и, наоборот, как энуклеация надпочечников, в свою очередь, влияет на развитие соединительной ткани в ране печени. Соответствующие данные представлены в материалах докладов Т.Н. Труупыльд, Ю.Э. Аренда и Т.Ю. Торпатс.

Следует подчеркнуть, что у крыс с поврежденными надпочечниками и ожогом печени одновременно изучению подвергнуты и показатели физиологической регенерации тканей в ряде органов. Данные о митотической активности клеток и интенсивности синтеза ДНК в этих условиях опытов приведены в настоящем сборнике для аденогипофиза (А.Ю. Труупыльд), эпителия желудка (П.О. Роосаар), эпителия тонкой кишки (В.А. Силласту), печени (Ю.Э. Аренд и Т.Ю. Торпатс) и лимфоидной ткани тимуса (Ю.П. Хуссар). Кроме того, зафиксирован и находится в стадии анализа материал для выяснения физиологической регенерации эпителия роговицы, пищевода, канальцев почки, а также лимфоидной ткани селезенки и лимфатического узла.

В настоящее время уже можно подвести некоторые итоги о положительных и отрицательных сторонах экспериментальной модели для комплексного изучения репаративной и физиологической регенерации тканей у одних и тех же животных.

Во-первых, установлено, что в пределах одной и той же однородной группы подопытных животных (один и тот же срок после операции) индивидуальные колебания пролиферативной активности проявляются у них в различных тканях в разной степени. Так, индивидуальные колебания индекса меченых тимиди-



ном-Н<sup>3</sup> ядер (ИМ) наиболее выражены у отдельных животных в адренокортикальном регенерате, в коре тимуса, в аденогипофизе, в эпителии желудка. Для эпителия тонкой кишки и фибробластов соединительной ткани в ране печени получены более ровные показатели индекса мечения ядер.

Во-вторых, выяснено, что в пределах одной и той же группы нет животных только с низкими или, наоборот, только с высокими показателями ИМ в различных тканях. У любого животного величины ИМ для одних тканей выше среднего, а для других - ниже среднего. Следовательно, обнаруживаемые индивидуальные колебания показателей пролиферации обусловлены не тем, что у того или иного животного процессы репродукции клеток подавлены вообще или, наоборот, вообще повышены.

Отрицательной стороной рассмотренной комбинированной экспериментальной модели является то, что в первые дни после оперативных вмешательств резко нарушен гормональный баланс организма. Так, известно, что после энуклеации надпочечников в течение 6-8 часов свободные кортикостероиды в плазме крови исчезают и практически отсутствуют в течение 3-4 суток (Fortier a. de Groot, 1959 и др.). Из-за временной адренокортикальной недостаточности часть животных погибает. Учитывая это обстоятельство, а также то, что в условиях резко измененного гормонального баланса результаты опытов могут оказаться искаженными, в модель запланировано ввести определенные коррективы и в будущем ограничиться лишь односторонней энуклеацией надпочечников.

#### ЛИТЕРАТУРА

- М а л ы ш е в Б. Ziegler's Beiträge, 1927, 78, I - 15. -  
C h e s t e r J o n e s I., S p a l d i n g M. H. J. Endocrinol., 1954, 10, 3, 251 - 261. - C r a n e W. A. J., I n g -  
l e D. J. Arch. Pathol., 1965, 79, 2, 169 - 176. - F o r -  
t i e r C., d e G r o o t J. Amer. J. Physiol., 1959, 196,  
3, 589 - 592. - G r e e p R. O., D e a n e H. W. Endocrinology, 1949, 45, I, 42 - 56. - H i g g i n s G. M., M u r -  
p h y G. T. Arch. Pathol., 1930, 2, 659 - 675. -

Ingle D.J., Higgins G.M. Amer. J. Med. Sci.,  
1938, 196, 2, 232 - 239.

О ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ АДРЕНОКОРТИКАЛЬНЫХ  
КЛЕТОК ПРИ ЭНУКЛЕАЦИИ НАДПОЧЕЧНИКОВ И НАНЕСЕНИИ  
ОЖОГА ПЕЧЕНИ У БЕЛЫХ КРЫС

Т.Н. Труупыльд

НИИ общей и молекулярной патологии  
Тартуского государственного университета

Репаративное восстановление коры надпочечника после вы-  
лучивания органа через разрез капсулы (энуклеации) у крыс  
изучено многими исследователями (Ingle a. Higgins, 1938;  
Greer a. Deane, 1948; de Groot a. Fortier, 1959; А.Ю.Труу-  
пыльд, 1968 и др.). В то же время отсутствуют данные о том,  
как протекает репарация коркового вещества в условиях комби-  
нированного повреждения, т.е. после одновременного поврежде-  
ния надпочечников и еще какого-либо другого органа. Разреше-  
ние этого вопроса, однако, имеет принципиальное значение при  
создании экспериментальной модели для комплексного изучения  
репаративной регенерации в различных тканях и органах. Поэто-  
му целью настоящей работы является изучение воздействия опе-  
рационной травмы с нанесением ожога печени на пролифератив-  
ную активность адренокортикальных клеток в интактных и эну-  
клеированных надпочечниках.

Всего поставлено 3 серии опытов: 1) операция с нанесени-  
ем термического ожога печени (67 крыс), 2) двусторонняя эну-  
клеация надпочечников по Эвансу (Evans, 1936) (61 крыса) и  
3) комбинированное повреждение (рана печени + энуклеация  
надпочечников) (64 крысы). Животных умерщвляли через 1, 3,  
6, 12 и 30 суток после оперативных вмешательств, причем час-  
ти из них вводили за 1 час до забоя тимидин-Н<sup>3</sup> из расчета

I мккюри на I г веса животного. Контролем служили I4 неоперированных крыс, 9 из которых до забоя также вводили тимидин-Н<sup>3</sup>.

Надпочечники обрабатывали гистологическими и гистоавто-  
радиографическими методами. Митотический коэффициент (МК) и индекс мечения ядер (ИМ) вычисляли в промилле на основе подсчета митозов и меченых тимидином-Н<sup>3</sup> ядер адренокортикальных клеток на протяжении одного или, при необходимости, нескольких гистологических срезов. Площадь, занимаемую адренокортикальной тканью на срединном гистологическом срезе, определяли с помощью гистотопографических рисунков.

Установлено, что у неоперированных крыс МК и ИМ составляют соответственно для клубочковой зоны  $0,80 \pm 0,15^0/00$  и  $1,83 \pm 0,23^0/00$ , а для пучково-сетчатой зоны -  $0,16 \pm 0,05^0/00$  и  $0,70 \pm 0,12^0/00$ .

В I серии опытов митотическая активность клеток клубочковой зоны падает, составляя через I, 6 и I2 суток после нанесения ожога печени соответственно  $0,21 \pm 0,05^0/00$  ( $p < 0,01$ ),  $0,28 \pm 0,09^0/00$  ( $p < 0,01$ ) и  $0,38 \pm 0,09^0/00$  ( $p < 0,05$ ). Параллельно с митотической активностью понижается и интенсивность синтеза ДНК в ядрах клеток клубочковой зоны. Так, через 6 и I2 суток соответствующие показатели ИМ равны  $0,73 \pm 0,15^0/00$  ( $p < 0,002$ ) и  $0,65 \pm 0,09^0/00$  ( $p < 0,001$ ). В пучково-сетчатой зоне коркового вещества после операции нет достоверных изменений митотической активности, а снижение ИМ через I2 суток ( $0,24 \pm 0,06^0/00$ ) статистически существенно ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, оперативное вмешательство с нанесением ожога печени вызывает в интактных надпочечниках подавление пролиферативной активности клеток как в клубочковой, так и в пучково-сетчатой зоне коркового вещества, хотя это подавление в большей степени выражено в клубочковой зоне. Изменения воспроизводства адренокортикальных клеток после операционной травмы, по-видимому, обусловлены нарушениями гуморального, в том числе и гормонального гомеостаза организма.

Во II и III сериях опытов объектом исследования являлось восстанавливающееся после энуклеации надпочечников корковое вещество. Гистологический и морфометрический анализ препара-



тов показывает, что процессы репарации и увеличения объема адренокортикального регенерата протекают одинаково во все сроки исследования, независимо от того, нанесена рана печени или нет. Такие же результаты получены при изучении митотической активности и интенсивности синтеза ДНК ядер клеток адренокортикального регенерата.

Так, в обеих сериях опытов наибольшие показатели МК и ИМ отмечаются в ранние сроки после оперативных вмешательств - через 3 и 6 суток. При энуклеации надпочечников (II серия) МК в эти сроки составляет  $7,29 \pm 1,48^{\circ}/\text{оо}$  и  $8,20 \pm 0,76^{\circ}/\text{оо}$ , а при комбинированном повреждении (III серия) -  $8,95 \pm 1,61^{\circ}/\text{оо}$  и  $7,68 \pm 1,02^{\circ}/\text{оо}$ . Показатели ИМ для этих серий опытов равны соответственно  $37,71 \pm 11,23^{\circ}/\text{оо}$  и  $38,01 \pm 6,17^{\circ}/\text{оо}$  через 3 суток и  $12,34 \pm 5,08^{\circ}/\text{оо}$  и  $13,14 \pm 2,49^{\circ}/\text{оо}$  через 6 суток.

Таким образом, наши данные убедительно показывают, что одновременное заживление другой операционной раны и организация очага некроза в печени не оказывают какого-либо существенного влияния на рост и развитие восстанавливающейся коры в энуклеированных надпочечниках.

#### ЛИТЕРАТУРА

Т р у у п ы л ь д А.Ю. Арх. анат., 1968, 55, 10, 29-37. - De G r o o t J. а. F o r t i e r C. Anat. Rec., 1959, 133, 3, 565-573. - Е в а н с G. Amer. J. Physiol., 1936, 114, 2, 297-308. - Г р е е р R.O. а. D e a n e H.W. Endocrinology, 1949, 45, 1, 42-56. - I n g l e D.J. а. H i g g i n s G.M. Amer. J. Med. Sci., 1938, 196, 2, 232-239.

О РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В  
РАНЕ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ОДНОВРЕМЕННОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ  
КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ У БЕЛЫХ КРЫС

Д.Э. Аренд, Т.Д. Торпатс

Кафедра анатомии и гистологии Тартуского  
государственного университета

Многими исследователями показано, что глюкокортикоиды подавляют, а минералокортикоиды активизируют репаративную регенерацию соединительной ткани при воспалении, заживлении ран и других процессах (В.Г. Елисеев, 1961; А.А. Войткевич, 1965; Л.К. Романова, 1977; Heilmeyer a. Kähler, 1962 и др.). В то же время весьма мало имеется данных о том, как протекает соединительнотканная репарация в условиях энуклеации надпочечников. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение влияния двусторонней энуклеации надпочечников на репаративную регенерацию соединительной ткани в ране печени.

Опыты проведены на 120 молодых половозрелых белых крысах-самцах в две серии (82 и 38 крыс). Всем крысам наносили гальванокаутером рану стандартной величины в печень, а у половины крыс дополнительно проводили билатеральную энуклеацию надпочечников по Эвансу. Продолжительность опытов в I серии составляла 1, 3, 6, 12 и 30, а во II серии - 3, 6 и 12 суток. Тканевые материалы из ран обрабатывались общегистологическими, гистохимическими и автордиографическими ( $^3\text{H}$ -тимидином) методами.

За одни сутки после нанесения раны печени по периферии некротического очага образуется лейкоцитарный вал, состоящий из уже частично распавшихся гранулоцитов, лимфоцитов и макрофагов. Двусторонняя энуклеация надпочечников не оказывает заметного влияния на интенсивность клеточной реакции, хотя и изменяет состав инфильтрата. В опытах только с раной печени среднее количество гранулоцитов  $456 \pm 10$ , мононуклеаров  $544 \pm 12$ , при двусторонней энуклеации гранулоцитов  $713 \pm 8$  и мононуклеаров  $287 \pm 9$  ( $p < 0,001$ ). Следовательно, двусторонняя энуклеация

надпочечников обуславливает запаздывание формирования лейкоцитарного инфильтрата и появления мононуклеаров-макрофагов.

К 3-у дню опыта вокруг некротического очага образуется пояс из макрофагов, появляются и молодые фибробласты, начинается коллагеногенез. Толщина пояса развивающейся соединительной ткани в опытах только с раной печени в I серии  $34,2 \pm 1,7$  мкм, во II серии  $33,5 \pm 1,8$  мкм. В условиях двусторонней энуклеации надпочечников процесс протекает несколько интенсивнее (в I серии  $45,3 \pm 2,6$  мкм -  $p < 0,002$ ; во II серии  $55,0 \pm 5,8$  мкм -  $p < 0,01$ ).

В 6-дневной группе опытов разрастающаяся грануляционная ткань образует вокруг некротического очага мощную зону организации, состоящую из слоя макрофагов-полибластов (непосредственно вокруг некроза) и из слоя созревающей соединительной ткани с фибробластами и коллагеновыми волокнами. Общая толщина зоны организации у животных с неповрежденными надпочечниками в I серии  $112,0 \pm 5,3$  мкм, во II серии соответственно  $105,0 \pm 3,3$  мкм. В условиях энуклеации надпочечников соединительнотканная реакция почти такая же либо несколько более интенсивная: I серия  $107,6 \pm 4,3$  мкм, II серия  $129,0 \pm 14,5$  мкм; статистическая достоверность отсутствует.

В 12-дневных опытах соединительная ткань врастает тяжами в некротический очаг и разделяет его на участки; измерять толщину пояса грануляционной ткани уже не представляется возможным, поэтому площадь разрастающейся ткани определяли планиметрическим способом. При двусторонней энуклеации наблюдается тенденция к более интенсивному разрастанию соединительной ткани, но из-за заметных индивидуальных колебаний различия статистически не достоверны. Все площади соединительной ткани при энуклеации надпочечников в I серии  $908 \pm 168$  мг, во II серии  $1281 \pm 446$  мг; у животных только с раной печени соответственно  $711 \pm 80$  и  $686 \pm 123$  мг.

К 30-му дню процесс заживления ран печени практически заканчивается; в соединительной ткани сохраняются лишь мелкие участки некротической ткани, главным образом участки, превращенные при каутеризации в уголь. Между группами опытов только с раной печени и с одновременно регенерирующей корой



надпочечников существенных различий не выявлено.

Подсчет митозов (МК в  $^{\circ}/\text{oo}$ ) и определение индекса меченых ядер (ИМЯ в  $^{\circ}/\text{oo}$ ) фибробластов во второй серии опытов показали, что в 3- и 6-суточных опытах происходит интенсивное разрастание фибробластов. В опытах только с раной печени МК соответственно  $2,03 \pm 0,19$  и  $1,38 \pm 0,16^{\circ}/\text{oo}$ ; ИМЯ  $35 \pm 3,1$  и  $25,8 \pm 1,9^{\circ}/\text{oo}$ . К 12-му дню пролиферация фибробластов замедляется: МК  $0,66 \pm 0,13^{\circ}/\text{oo}$ , ИМЯ  $10,2 \pm 1,5^{\circ}/\text{oo}$ . В экспериментах с двусторонней энуклеацией надпочечников динамика процесса такая же: в 3-дневных опытах МК  $1,94 \pm 0,24^{\circ}/\text{oo}$ , в 6-дневных экспериментах  $1,68 \pm 0,43^{\circ}/\text{oo}$ , в 12-суточных опытах  $0,35 \pm 0,21^{\circ}/\text{oo}$ ; ИМЯ соответственно  $40,7 \pm 2,6$ ,  $25,1 \pm 2,6$  и  $13,5 \pm 2,1^{\circ}/\text{oo}$ . Статистически достоверных различий между показателями опытов только с нанесением раны печени и экспериментов с комбинированными повреждениями не наблюдалось.

Таким образом, одновременная энуклеация надпочечников мало влияет на ход соединительнотканной репарации в ране печени. Некоторая стимуляция в 3- и 12-суточных опытах объясняется, по-видимому, адренокортикальной недостаточностью на начальных стадиях эксперимента. Отсутствует влияние глюкокортикоидов, тормозящих разрастание соединительной ткани. По мере восстановления адренокортикальной ткани дефицит глюкокортикоидов уменьшается.

#### ЛИТЕРАТУРА

- В о й т к е в и ч А.А. Восстановительные процессы и гармонич. Л., "Медицина", 1965. - Е л и с е е в В.Г. Соединительная ткань. М., "Медгиз", 1961. - Р о м а н о в а Л.К. В кн.: Новое в учении о регенерации. Ред. Л.Д. Лиознер. М., "Медицина", 1977, 269-296. - Н e i l s e u e r L., K ä h l e r H.J. *Helv. Medica Acta. Suppl.* XL. Basel/Stuttgart, 1962.

## ПОСТТРАВМАТИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ И ВРЕМЯ СУТОК

Л.Р. Сапожникова, Х.М. Авиньо Маррадес, Г.С. Катинас  
Кафедра гистологии Ленинградского медицинского  
института им. акад. И.П. Павлова

В настоящее время все больше развиваются представления о зависимости от времени суток чувствительности организма к внешним воздействиям. Аналогичные сведения накапливаются и в отношении посттравматической регенерации (Van Cantfort a. Barbason, 1972; Гущин В.А., 1976, и др.). Цель данного исследования - выяснить, одинаково ли влияет момент операции на посттравматический гистогенез эндотелия, мезотелия и рыхлой волокнистой соединительной ткани.

Опыты проведены на кроликах и мышах в период весеннего равноденствия в Ленинграде утром, днем и вечером. Состояние эпителиев изучали в течение 5 суток на плоскостных пленочных препаратах, окрашенных железным гематоксилином и галлоцианином, а рыхлой соединительной ткани - в течение 18 суток на срезах, окрашенных по методам Маллори и Фута. Учитывали митотическую активность (МА) и взаимосвязанные с ней параметры и образование коллагеновых волокон. Применяли методы статистической обработки (Катинас Г.С., 1978).

Процесс посттравматической регенерации эндотелия и мезотелия, судя по динамике МА, количества ядрышек, размеров клеток, доли двухъядерных элементов, формы клеток и ядер, количества контактов клеток с соседними, имеет волнообразный характер и усиливает гетероморфность этих тканей.

В эндотелии вечерняя операция вызывает более ранние и сильные реактивные изменения. Динамика МА характеризуется 24-часовой ритмикой. Изменения других параметров взаимосвязаны с началом развития и пиками волн МА. На пятые сутки появляется тенденция к постепенной нормализации темпа митотического деления клеток, их размеров, количества ядрышек в их ядрах и происходит полное возвращение к контрольным данным по числу двухъядерных элементов, форме клеток и количеству

их контактов. После утренней операции реакция носит более затяжной характер. В динамике МА не наблюдается суточной ритмики. Ни по одному признаку не отмечается начала нормализации, за исключением количества контактирующих клеток.

В мезотелии более сильные и ритмичные (близкие к суточным) реактивные изменения по ряду признаков - МА, динамике количества ядрышек, изменениям количества взаимных клеточных контактов - вызывает не вечерняя, а утренняя операция. Размеры клеток в этой серии опытов меньше всего отличаются от контроля и оказываются крупнее во все сроки наблюдения, их изменения только после 48 часов характеризуются ритмикой, периоды которой приближаются к суточным. После вечерней операции реакции мезотелия продолжительнее во времени и менее интенсивны.

Посттравматическая регенерация соединительной ткани исследовалась по одному параметру - динамике образования коллагеновых волокон в грануляционной ткани, которая возникала в ухе мыши после прокола. Оказалось, что демаркационный вал формируется через II часов после операции, проведенной утром и днем, а после вечерней операции - через 37 часов, т.е. на 26 часов позже. После утренней и дневной операции первые коллагеновые волокна появляются через 55, а после вечерней - только через 90 часов. Динамика процесса после утренней и дневной операции сходна. После вечерней операции, несмотря на то, что первые коллагеновые волокна появляются позже, их количество постепенно достигает показателей первых двух серий опытов, т.е. процесс идет быстрее.

Количество основного вещества в период коллагенообразования постепенно уменьшается, что также происходит интенсивнее после вечерней операции. Судя по значению  $\chi^2$ , динамика кривой после вечерней операции значимо отличается от показателей после утреннего вмешательства.

Приведенные данные показывают, что время травмы сказывается неодинаково на течении репаративных реакций данных тканей. Возможно, различия связаны с циркадной фазой состояния организма и его частных систем при операции. Реакции разных тканей на травму, нанесенную в одно и то же время суток, также неодинаковые.



## ЛИТЕРАТУРА

- Гущин В.А. Цитология, 1976, 18, № II, с. 1339-1346. -  
Катинас Г.С. В кн.: Прижизненная микроскопия нейрона.  
Л., "Наука", 1978, с. 136-149. - Van Santfort I.I.,  
Barbason H.R. Cell Tissue Kinet., 1972, 5, 4, p.  
325-330.

### ОБ ИЗМЕНЕНИИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В ХОДЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

В.А. Валдес

Таллинская республиканская больница

Весьма опасным послеоперационным осложнением, особенно при операциях органов брюшной полости, является расхождение операционной раны и анастомозов с последующим возникновением фистул, гнойно-воспалительных процессов и сепсиса. Часть приведенных в литературе факторов риска таких осложнений связана с общим состоянием организма в период до острого заболевания (преклонный возраст, мужской пол, ожирение), другие же обусловлены заболеванием или проведенным лечением (злокачественные опухоли, воспалительные и септические процессы, илеус, перитонит, сахарный диабет, желтуха, уремия; сдвиги гомеостаза как баланса воды и электролитов, так и нейрогуморальной регуляции, гипопротеинемия, авитаминоз С; анемия, нарушение свертываемости крови, потеря крови; стресс (также психический); операционная травма с учетом длительности, объема и повторности операций; предшествующее лечение глюкокортикоидами, цитостатиками и радиационным лечением). Роль способа локальной обработки раны и непосредственной раневой инфекции меньше.

Наше внимание привлекали изменения характера раневого репаративного процесса в ходе заболевания как от усугубления

болезненного процесса, так и в связи с проведенными операциями. В ряде случаев наблюдался сдвиг первоначально благоприятного течения заболевания в сторону неблагоприятного с прибавлением прогрессирующих, все более и более тяжелых осложнений: открытие операционной раны и анастомозов, образование свищей, перитонит, сепсис. После повторных операций, проведенных с целью ликвидации осложнений, возникали новые, еще более тяжелые осложнения. При гистологических исследованиях материала разных этапов заболевания (операции, секция) наблюдалось существенное различие репаративного процесса. Активная грануляционная ткань, богатая фибробластами и молодыми капиллярами, превращается в менее активную с дегенеративными формами фибробластов, со старением капилляров, с уменьшением количества полинуклеарных лейкоцитов. Наконец образуется грубая, малоклеточная соединительная ткань, в случаях воспаления покрытая фибринозным экссудатом без признаков организации. В ряде случаев прибавлялись тромбозы и сепсис. Сравнительные гистологические исследования секционного материала из разных очагов болезненного процесса позволяют репродуцировать этапную динамику заболевания (различный объем дегенерирующей грануляционной ткани, ее различное соотношение с коллагеновой соединительной тканью и фибринозным экссудатом).

Неблагоприятная динамика заболевания с новыми усугубляющими осложнениями обусловлена прибавлением все новых компонентов (операционная травма, инфекционные осложнения, поражение печени и почек, потеря крови, гипопротеинемия и др.) в патогенетическую цепь, действующую уже в виде замкнутого круга.

Особого внимания заслуживают случаи, когда одним из существенных неблагоприятных патогенетических факторов является операционная травма. Здесь, как правило, имел место неправильный дооперационный диагноз (неправильная оценка состояния больного) или допускались ошибки в определении показаний и объема операции.

Таким образом, успех хирургической операции, кроме ее технического осуществления, в значительной мере зависит от умения связывать показания и необходимый объем операции с

общим состоянием больного. Благоприятная тканевая реакция при первой операции еще не означает, что она будет такой же при повторных операциях.

Демонстрируются гистологические находки секционных случаев с неблагоприятной динамикой репаративного процесса в ходе заболевания (у молодых людей).

#### ЛИТЕРАТУРА

Ellis H. Ann. Royal Coll. Surg. (England), 1977, 59, 382-387. - Helmkamp B.F. Amer. J. Obstet. Gynec., 1977, 128, 803-807. - Konrad R.M. Langenbecks Archiv für Chirurgie, 1966, 316, 587-592. - Schmidtler F., Schildberg F.-W., Schramm W., Gleisner C. München. med. Wschr., 1977, 119, 685-689.

#### ИЗУЧЕНИЕ СИНТЕЗА ГИСТИДИН-БОГАТЫХ БЕЛКОВ В ПРОЦЕССЕ РЕГЕНЕРАЦИИ ЭПИДЕРМИСА И ВЛИЯНИЕ НА НЕГО КЕЛЛОНОВ

С.А. Кетлинский, Е.В. Парфенова

Лаборатория экспериментальной гистологии Института экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

Эпидермис млекопитающих состоит из четырех морфологически разных слоев - базального, шиповатого, зернистого и рогового, клетки которых различаются по уровню дифференцировки. Методом автордиографии показано, что в отличие от других аминокислот гистидин и глицин включаются преимущественно в верхние, более дифференцированные слои эпидермиса (Fukuяама и др., 1965, Fukuяама и др., 1966). На этом основании



сделано предположение о том, что процесс дифференцировки эпидермоцитов сопровождается синтезом специфических белков, богатых гистидином и/или глицином (Hoover, Bernstein, 1966). Действительно, из эпидермиса новорожденных крыс выделены белки, характеризующиеся необычно высоким содержанием гистидина (около 7%), которые являются метаболическими предшественниками кератогиалина и кератина (Hoover, Bernstein, 1966). В эмбриогенезе интенсификация синтеза этих белков совпадает по времени с появлением первых гранул кератогиалина (Balmain и др., 1977), в связи с чем ряд авторов рассматривает гистидин-богатые белки в качестве биохимических маркеров дифференцировки эпидермоцитов (Ball и др., 1978). В коже взрослых животных их синтез снижается вследствие общего замедления уровня пролиферации и дифференцировки (Balmain и др., 1977).

В нашей лаборатории изучается модель регенерирующей кожи, индуцированной к пролиферации путем выщипывания волосяного покрова кожи спины мышей линии СВ1-57. Через 10-12 часов после выщипывания начинается интенсивное вступление клеток базального слоя эпидермиса в фазу синтеза ДНК, максимум которого в 6 раз превышает норму к 15 часам после операции. На 5-6 часов от начала волны синтеза ДНК отстоит волна митозов в клетках базального слоя.

В настоящей работе на модели регенерирующего эпидермиса изучен уровень синтеза белка по включению  $^3\text{H}$ -гистидина (как маркера синтеза специфических белков дифференцировки эпидермоцитов) и  $^3\text{H}$ -лейцина (как показателя общего белкового синтеза). По данным автордиографии, включение гистидина возрастает в 2-3 раза уже через 2-4 часа после операции, что обнаруживается во всех слоях регенерирующего эпидермиса как верхних, так и нижних. Стимуляция включения лейцина выражена значительно слабее и сопоставима по времени с нарастанием волны синтеза ДНК в базальных клетках, в то время как увеличение включения гистидина наблюдается намного раньше.

В системе *in vivo* проводилось изучение включения  $^3\text{H}$ -гистидина в гистидин-богатые белки, которые затем выделены из нормального и регенерирующего эпидермиса по методике Бернс-

тейна (1978), позволяющей получить раздельно 2 фракции этих белков - I и II, отличающиеся по молекулярному весу и некоторым физико-химическим свойствам, но близкие по аминокислотному составу. Фракция II образуется из фракции I путем ограниченного протеолиза на более поздних стадиях дифференцировки эпидермоцитов (Ball и др., 1978). Показано, что уже в первые часы после выщипывания волосяного покрова, задолго до начала волны усиленного синтеза ДНК, наблюдается резкое увеличение синтеза фракции I гистидин-богатых белков и замедление ее перехода в более позднюю фракцию II, т.е. создание пула ранних белков дифференцировки. Интенсификация этого перехода и, следовательно, образование более поздних белков дифференцировки, близких кератину, наблюдается через I сутки после операции параллельно с нарастанием числа митотически делящихся клеток в базальном слое.

Известно, что эпидермальные кейлоны являются тканеспецифическими ингибиторами пролиферации эпидермоцитов (Bullough, 1965). Любопытно было выяснить, влияют ли кейлоны на процессы дифференцировки эпидермоцитов. Как показали автордиографические и биохимические данные, через 8 часов после внутрибрюшинного введения животным эпидермальных кейлонов, полученных по ранее описанной методике (Окулов, Кетлинский, 1975), (в количестве 3 мг/мышь одновременно с выщипыванием волосяного покрова) наблюдается 8-10-кратное угнетение синтеза гистидин-богатых белков в регенерирующем эпидермисе, предшествующее подавлению кейлонами первой волны синтеза ДНК, которое выражено в клетках как базального, так и верхних слоев эпидермиса. Включение  $^3\text{H}$ -лейцина в клетки всех слоев регенерирующего эпидермиса, напротив, 10-кратно стимулируется под влиянием кейлонов. Отмеченные в нашей работе реципрокные взаимоотношения между включением гистидина и лейцина при различных воздействиях на прохождение эпидермоцитами клеточного цикла сопоставимы с имеющимися в литературе данными о включении этих аминокислот в созревающий в онтогенезе эпидермис (Freinkel и др., 1975) свидетельствуют о преимущественном включении этих аминокислот в функционально различные белки.

На основе полученных нами данных можно заключить, что

различные воздействия на пролиферативную активность эпидермоцитов являются сигналом не только для базальных клеток эпидермиса, но и для дифференцированных его клеток - к усилению или угнетению синтеза специфических белков дифференцировки. Изменение уровня синтеза специфических белков дифференцировки при этом является более ранним событием, чем изменение синтеза ДНК и митозов.

#### ЛИТЕРАТУРА

Fukuyama K., Nakamura T., Bernstein I.A. Anat. Rec., 1965, 152, 525-535. - Fukuyama K., Epstein W.L. J. Invest. Derm., 1966, 47, 551-560. - Hooper J.K., Bernstein I.A. Proc. Nat. Acad. Sci., 1966, 59, 594-598. - Balmain A., Loebl D., Fisher J., Alonso A., Devel. Biol., 1977, 60, 442-452. - Ball R.D., Walker G.K., Bernstein J.A. J. Biol. Chem., 1978, 253, 5861-5868. - Bulough W.S. Cancer Res., 1965, 25, 1683-1727. - Freinkel R.K., Katherine A. Wier. J. Invest. Derm., 1975, 65, 482-487. Окулов В.Б., Кетлинский С.А., Докл. АН СССР, 1975, 221, 2, 499-501.

#### ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РЕГЕНЕРАЦИИ НОРМАЛЬНОЙ И ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННОЙ ПЕЧЕНИ

Б.П. Солопаев, И.Ф. Колпадинова, Л.С. Палигина,

В.В. Садовникова, В.Н. Иноземцева

Кафедра биологии Горьковского медицинского  
института им. С.М. Кирова

В данном сообщении рассматриваются роль иммунной системы в механизмах повреждения и восстановления печени, значение системы внутритканевой регуляции, осуществляющейся путем межклеточных и внутриклеточных корреляций, вопросы биоэнергетики по изучению спектра макроэргов в процессе репаративной регенерации печени.



При изучении морфологических изменений в органах иммунной системы, неспецифических и специфических факторов клеточного иммунитета, плазматитарной реакции и реакции повреждения нейтрофилов выяснилось, что экспериментальный цирроз печени развивается на фоне аутоSENSИБИЛИЗАЦИИ организма, атрофии тимуса, селезенки и лимфоузлов, плазматизации костного мозга и селезенки, гипергаммаглобулинемии и гипергистаминемии. Выявленное угнетение миграционной способности стволовых клеток костного мозга позволяет предположить влияние этого механизма на развитие атрофии лимфоидных органов.

Путем трансплантации клеток органов иммунной системы от доноров с экспериментальным гепатитом (мыши линии СВА х С57В<sub>2</sub>) получен дистрофический процесс в печени здоровых реципиентов (мышей той же линии).

В опытах на линейных мышах с экспериментальным токсическим гепатитом установлено, что трансплантация клеток лимфоидных органов здоровых доноров усиливает восстановительный процесс в патологически измененной печени реципиентов. Проведенные исследования выявили взаимосвязь в иммунной системе и печени при развитии экспериментального цирроза, что позволяет предположить ведущую роль в патогенезе хронических поражений печени дефицита Т-системы, по-видимому, приводящего к нарушению саморегуляции системы иммунитета и развитию аутоиммунных нарушений в организме.

Значительную роль в поддержании структурной и функциональной интеграции тканевых структур, а также в процессах тканевой регуляции играют межклеточные контакты как системообразующие элементы, которые изучались на модели экспериментального холестаза, вызванного перевязкой общего желчного протока у крыс.

Выявлено, что дезинтеграция тканевых и клеточных структур, наблюдающаяся при застое желчи, приводит к нарушению системы внутритканевой регуляции, что проявляется в нарушении стабильности контактов, в первую очередь плотных соединений. В ответ на перевязку протока в паренхиме развиваются репаративные процессы, хотя пролиферативная активность гепатоцитов невелика ( $MI = 1^0/00$ ). В процессе репаративной реген-

нерации после резекции (30%) дезинтеграция составных элементов ткани печени возрастает. Наряду с расширением плотных контактов увеличиваются пространства в области щелевых соединений, являющихся наиболее прочными. Это растормаживает деятельность отдельных клеток и ведет к усилению их пролиферативной активности. Митотический индекс гепатоцитов составлял через 48 часов после резекции 5<sup>0</sup>/оо. Уменьшение межклеточных связей совпадает с пиком митотической активности гепатоцитов, что связано с приобретением клетками автономности при осуществлении процесса деления.

Важную роль в реакциях обмена веществ и энергетического обмена в клетке выполняют мононуклеотиды. Методом колоночной хроматографии определялись адениловые (АМФ, АДФ, АТФ) и гуаниловые (ГДФ, ГТФ) нуклеотиды с последующим вычислением энергопотенциала.

В процессе репаративной регенерации печени АМФ и АДФ изменялись незначительно. Наибольшие изменения в содержании АМФ наблюдались на 3-и сутки после резекции (количество АМФ в 1,4 раза превышало нормальный уровень). Количество АДФ было более стабильным (в течение первых 4 дней оно было несколько ниже нормы, в конце опыта повышалось в 1,3 раза выше нормы). Резкие изменения отмечались в содержании АТФ (значительное снижение на 2-3-и сутки, затем постепенное повышение к 6-ым суткам; через неделю резкое понижение и почти до нулевых значений на 8-10 сутки).

Со стороны гуаниловых нуклеотидов отмечаются резкие колебания количества ГДФ на 4-6-е сутки после резекции (на 5-е сутки в 2 раза выше нормы, на 6-ой день падение до нуля). Количество ГТФ уже на 2-е сутки превышало норму в 5 раз, на 6-й день резко понижалось до нормальных цифр, затем вновь резко возрастало и сохранялось высоким в течение всего опыта.

Несмотря на значительные изменения в содержании макроэргов, колебания энергопотенциала в течение опыта были незначительными, что, вероятно, свидетельствует о больших компенсаторных возможностях печени.

## ЛИТЕРАТУРА

М а л е н к о в А.Г., Ч у и ч Г.А. Межклеточные контакты и реакция ткани. М., "Медицина", 1979, 135 с. — G o l d - b e r g H.D., H a d d o x M. K. et al. In: Pharmacology and the Future of Man. (International Congress), New York, 1973, 2, p. 146.

### ПОЛИПЛОИДИЗАЦИЯ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ СПОНТАННОЙ И РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ЦИРРОТИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННОЙ ПЕЧЕНИ

И.А. Коваленко

Кафедра нормальной физиологии Горьковского  
сельскохозяйственного института

Известно, что при репаративной регенерации нормальной печени основным процессом, приводящим к восстановлению массы органа, является митотическое деление гепатоцитов (Рябинина З.А., Бенюш В.А. 1973). Наблюдающаяся при этом полиплоидизация гепатоцитов не играет решающей роли.

При репаративной регенерации патологически измененной печени митотическая активность гепатоцитов невелика, а при спонтанной (протекающей без резекции) регенерации этого органа фигуры митозов практически совсем не выявляются (Монозон И.А., 1968). При этом так же проявляется полиплоидизация гепатоцитов.

Целью настоящей работы было изучение характера полиплоидизации одноядерных гепатоцитов при спонтанной и репаративной регенерации цирротически измененной печени крыс и оценка ее роли в этих процессах.

Группа крыс с экспериментальным циррозом печени, вызванным длительным введением четыреххлористого углерода, подверглась резекции 70% ткани органа. У другой группы животных с



циррозом проводилась только лапаротомия. Животные обеих групп забивались через 1, 3, 7, 14, 30 суток, 4 и 6 месяцев после операции. Плоидность одноядерных гепатоцитов определялась с помощью однолучевого цитофотометра на препаратах изолированных клеток, окрашенных по Фельгену.

Длительным введением четыреххлористого углерода в печени экспериментальных животных вызываются глубокие цирротические изменения.

В течение первых четырех месяцев после лапаротомии происходит массовая гибель животных. Гистологически в печени погибших крыс выявлялось усугубление цирротических изменений. Однако 24,6% животных этой группы выжило. В их печени вплоть до 6 месяцев после операции не наблюдалось четкой обратимости цирротических изменений. Только через 6 месяцев после лапаротомии у выживших животных выявлялась нормализация структуры и функции органа.

Спонтанная регенерация цирротически измененной печени протекала при практически полном отсутствии митотической активности гепатоцитов. При этом развивалась интенсивная полиплоидизация паренхиматозных клеток, а динамика процентного соотношения клеток разных классов плоидности была незначительной.

Диплоидные гепатоциты составляли незначительную часть популяции в течение всего опыта: 7,3-9,3%. Наибольшим было количество тетраплоидных печеночных клеток - 63-79%. Изменения их количества во время эксперимента были недостоверными. Большой удельный вес среди одноядерных гепатоцитов составляли октоплоидные. Их в разные сроки было от 12 до 20,3%. На протяжении всего опыта выявлялось значительное количество 16-плоидных клеток: 8,7-5,3%. Перед операцией их было 3,3%.

Резекция 70% ткани цирротически измененной печени стимулировала регенерационные процессы в органе. Смертность экспериментальных животных в этой группе составила лишь 2,8%. Уже через месяц после резекции приближается к нормальному соотношению нормальных и дегенерирующих гепатоцитов в поле зрения, и с этого времени начинается резорбция избыточно разросшейся соединительной ткани.

В печени крыс этой экспериментальной группы также проис-

ходила полиплоидизация гепатоцитов. При этом наиболее подвижными оказались популяции ди- и тетраплоидных клеток. На 3-и и 7-е сутки после резекции выявлялось увеличение количества диплоидных гепатоцитов, следующее за волной митозов, прошедшей на 2-3-и сутки. Затем отмечается достоверное снижение диплоидных и увеличение тетраплоидных (2 пл. гепатоциты: до операции - 6,0%, I с. после резекции - 5,5; 3-и - 27,1; 7-е - 38,0; I4-е - 15,3; 30-е - 6,9; 4 месяца - 12,5; 6 месяцев - 15,8. 4 пл. гепатоциты: до операции - 69,1; I-е сутки после резекции - 79,2%; 3-е - 44,6; 7-е - 40,5; I4-е - 49,4; 30-е - 65,3; 4 месяца - 62,6; 6 месяцев - 64,0%). Наиболее стабильной была популяция октоплоидных клеток. Достигнув к 3-им суткам 15,8%, число этих клеток сохраняется стабильным до конца опыта. I6-плоидные гепатоциты у крыс этой экспериментальной группы выявлялись только на I4-е и 30-е сутки и то в незначительных количествах.

Таким образом, как при репаративной, так и при спонтанной регенерации цирротически измененной печени наблюдается интенсивная полиплоидизация одноядерных гепатоцитов. Однако при спонтанной регенерации степень полиплоидизации значительно выше. Средняя плоидность печеночных клеток у животных I экспериментальной группы составляет 5,07%, тогда как в регенерирующей после резекции печени - 3,18%. Характер полиплоидизации одноядерных гепатоцитов при спонтанной регенерации цирротически измененной печени значительно отличается от характера течения этого процесса у крыс с цирротически измененной печенью, регенерирующей после 70%-ной резекции.

#### ЛИТЕРАТУРА

Моноссзон И.А. Дисс. канд. Горький, 1968. - Рябина З.А., Бенюш В.А. Полиплоидия и гипертрофия клеток в процессах роста и восстановления. М., "Медицина", 1973.

## ДИФФЕРЕНЦИРОВКА КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРИ РЕПАРАТИВНОМ ОСТЕОГЕНЕЗЕ И ВВЕДЕНИИ КАЛЬЦИТОНИНА

Г.В. Хомулло, Т.В. Иваненко, В.И. Лотова,  
В.М. Травкина, Т.И. Рыжова, Г.А. Кокорева  
Кафедра биологии с общей генетикой Калининского  
государственного медицинского института

Многолетними исследованиями, проводимыми в нашей лаборатории, установлены стимулирующее влияние гормона щитовидной железы кальцитонина (КТ) на скорость заживления переломов длинных трубчатых костей у крыс и зависимость этого процесса от уровня и характера метаболизма в тканях (Г.В.Хомулло, 1974; Г.В. Хомулло, Т.В. Иваненко, 1977; Г.В.Хомулло, Т.В. Иваненко, В.И. Лотова, 1977). Однако детального изучения начальных этапов посттравматической регенерации кости под действием КТ нами ранее не проводилось. В связи с этим основной задачей настоящего исследования явилось изучение клеточных элементов фибробластического ряда при формировании соединительнотканной мозоли в условиях введения данного гормонального фактора.

Эксперименты выполнены на 150 белых крысах-самцах в 2 серии: 1 - контроль, 2 - введение КТ. Всем животным нанесен однотипный перелом правой большеберцовой кости. Свиной КТ вводился внутримышечно в суточной дозе 2 ед. на животное в течение всего периода исследования. Скорость и характер репаративного процесса оценивались на основании комплекса методов: общеморфологических (измерение участков новообразующихся тканей, цитометрия фибробластов), гистологических, гистохимических и электронномикроскопических.

Полученные данные дают основание констатировать, что введение кальцитонина вызывает значительное ускорение начальных этапов костеобразования при сохранении последовательности их протекания.

Выраженные противоотечное и противовоспалительное свойства гормона обуславливают незначительное развитие некробио-



тических процессов в зоне повреждения и способствуют ускорению формообразования в кости.

В условиях введения КТ отмечается одновременная более активная, чем в контроле, реакция во всех зонах регенерата. Продуцирующаяся в значительном количестве соединительная ткань в интермедиарной зоне, периостально и эндостально отличается большой степенью зрелости и полиморфизмом клеток с преобладанием полибластов, макрофагов, тучных клеток и, особенно, элементов фибробластического ряда. Фибробласты имеют крупные размеры и многоотростчатую форму; коллагеновые структуры располагаются массивными тяжами и обеспечивают раннее прочное сцепление проксимального и дистального отломков кости.

Электронномикроскопическое исследование фибробластов соединительной ткани показало, что одним из эффектов КТ является ускорение основных этапов коллагеногенеза. Значительное развитие в фибробластах получает гранулярный цитоплазматический ретикулум, увеличиваются размеры и количество митохондрий, гипертрофируется пластинчатый комплекс, появляется множество везикулярных элементов, т.е. изменяются ультраструктуры, ответственные за синтез, накопление и выведение коллагенового белка. Дальнейшее включение молекул тропоколлагена в структуру коллагеновых фибрилл и формирование пучков нативных коллагеновых волокон также ускоряются.

Усиление под действием КТ биосинтетической и секреторной деятельности фибробластов сопровождается ускорением процессов дифференцировки клеток фибробластической генерации. Так, через 5 дней в соединительной ткани мы наблюдали разнообразие морфологических форм фибробластов; в последующие сроки наблюдения (10 и 15 дней) происходило постепенное уменьшение количества активно синтезирующих коллаген клеток и преобладание фибробластов, претерпевающих деструктивно-дегенеративные изменения. Напротив, у контрольных животных через 15 дней после операции активно продуцирующие коллаген фибробласты являются преобладающим клеточным элементом.

Высокая пролиферативная активность клеток соединительнотканной природы и ускорение дифференцировки полибластов в

фибробласты сочетаются с некоторым тормозящим влиянием КТ на образование хондробластов. В этой связи развитие хондроидно-хрящевой ткани замедляется, в области перелома преимущественное развитие получает остеοидная ткань.

Таким образом, проведенное исследование дает нам основание заключить, что в основе стимулирующего влияния экзогенного кальцитонина на течение начальных этапов регенерации кости лежит генерализованная реакция клеточных элементов фибробластического ряда. Ускорение под действием КТ дифференцировки фибробластов на фоне стимуляции основных этапов коллагено- и фибриллогенеза ведет к раннему формированию органического матрикса кости и обеспечивает тем самым условия, необходимые для оптимальной оссификации.

#### ЛИТЕРАТУРА

Х о м у л л о Г.В. В сб.: Тирокальцитонин и репаративная регенерация тканей в эксперименте и клинике, 1974, с. II-17.  
- Х о м у л л о Г.В., И в а н е н к о Т.В. Арх. анат., гистол. эмбриол., 1977, 10, с. 75-81. - Х о м у л л о Г.В. И в а н е н к о Т.В., Л о т о в а В.И. Бюлл. эксперим. биол. мед., 1977, 11, с. 618-621.

#### О РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ НАРУШЕННОЙ ИННЕРВАЦИИ

П.О. Роосаар

Кафедра анатомии и гистологии

Тартуского государственного университета

Репаративная регенерация является одной из актуальных проблем медицины и биологии. Особый интерес представляют данные изменений регенерационных процессов, следующих за нарушениями регуляторных механизмов. В своей работе мы исследуем

довали процесс регенерации (выздоровления) перелома голени у белых крыс после резекции смешанного (седалищного) нерва. И.Д. Хлопина (1957), О.В. Волкова (1978), Т.П. Виноградова, Т.И. Лаврищева (1974), а также данные наших предыдущих исследований (В.Ю. Пыкк, П.О. Роосаар, 1969) показывают, что нарушения периферического нерва вызывают глубокие изменения в тканях иннервируемых им областей: медленный ход асептического воспаления (особенно удлиняется фаза макрофагов), продолжительная венозная гиперемия, деструкция и замена высокодифференцированных тканей соединительной тканью, дистрофические и атрофические изменения во всех тканях, значительное замедление регенерации. Все перечисленные изменения получили название нейродистрофии.

В настоящей работе исследовалась регенерация костной ткани у 127 взрослых белых крыс весом 200-300 г, которым был нанесен перелом голени. У 64 подопытных животных был дополнительно резецирован седалищный нерв. Продолжительность опытов составляла от I до 72 дней. Препараты окрашивались по обзорным методам (гематоксилин-эозин, ван Гизон, азан), проведен также ряд гистохимических исследований (ШИК-реакция, тионин, реакция Браша). Определялись различия в состоянии кровеносных сосудов, в скоростях и особенностях дифференциации тканей, выяснились также причины возникновения ложного сустава после поражения периферического нерва. Объемные соотношения в каллусе оценивались планиметрически (бумажно-весовым методом).

Первичной реакцией в зоне перелома являлась гиперемия. Существенных различий между контрольной группой и животными с резекцией участка седалищного нерва в опытах продолжительностью менее 10 дней обнаружено не было. В дальнейшем у контрольных животных отмечалось обратное развитие гиперемии, а в подопытной группе она сохранялась в течение 35 дней. Различие между двумя группами статистически достоверно ( $p < 0,01$ ).

Наиболее значительные различия в дифференциации тканей мозоли обнаружены в его хрящевой и костной частях, в частности по линии перелома. Как правило, у животных контрольной группы костная ткань в каллусе развивалась быстрее как из



соединительной ткани, так и из хряща. У животных с повреждениями седалищного нерва хрящевая ткань в мозоли образовывалась со значительно пониженной остеогенной активностью и в значительно большем количестве ( $p < 0,05$  - в опытах продолжительностью в 20-35 суток). У животных с резекцией нерва в хрящевой ткани заметно уменьшается синтез кислых мукополисахаридов.

Образование костной ткани в контрольной группе происходило интенсивнее. Уже на 20-25-й день фрагменты соединялись костной периостальной мозолью. Образовавшие балки окружены остеобластами с ШИК-положительной цитоплазмой, содержащей в большом количестве РНК. Постоянно образующаяся остеοидная ткань содержит в большом количестве кислые мукополисахариды. У животных с денервацией центральная часть периостального каллуса содержит хрящевую ткань, которая препятствует консолидации перелома в опытах продолжительностью даже в 72 дня. Костные балки мозоли тонкие, только местами окружены остеобластами и остеοидной тканью, содержащей кислые мукополисахариды лишь в незначительном количестве.

У животных с нарушением иннервации в массивных участках хрящевой ткани в периостальной и промежуточной мозоли развивался обширный некроз с последующей заменой его грануляционной тканью, остеогенетическая активность которой очень низкая. Образующаяся при этом соединительнотканная зона препятствует сращению перелома.

По данным настоящей работы, после повреждения смешанного нерва обнаруживается продолжительная гиперемия, вызывающая нарушение обменных процессов, которое затормаживает развитие остеобластов, подавляет синтез мукополисахаридов и образование костной мозоли. Развиваются деструктивные изменения хряща (некроз) с разрастанием соединительной ткани, лишенной остеогенной способности. Поэтому после резекции участка седалищного нерва переломы осложняются ложным суставом. В более продолжительных опытах с нарушением иннервации (начиная с 25-го дня опыта) у всех белых крыс образуются псевдоартрозы.

## ЛИТЕРАТУРА

- В о л к о в а О.В. Нейродистрофический процесс. М., "Медицина", 1978. - В и н о г р а д о в а Т.П., Л а в р и щ е в а Г.И. Регенерация и пересадка костей. М., "Медицина", 1974. - Х л о п и н а И.Д. Морфологические изменения денервированных тканей и развитие трофической язвы нейрогенного происхождения. Л., "Медгиз", 1957. - P ö k k V.J., R o o v a a g P.O. TRÜ Toimetised, XIX. Tartu, 1969, 46-52.

## РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ЦЕМЕНТА ЗУБА

Э.-М.Й. Метса

Кафедра стоматологии Тартуского государственного университета

Клеточный цемент регенерирует относительно быстро и хорошо. Сложнее с бесклеточным цементом, который имеет не экто-мезенхимальное происхождение, а является продуктом эмалевого эпителия (Stahl, Slavkin, 1972; Schonfeld, 1975). Поэтому у взрослых животных регенерация бесклеточного цемента не представляется возможной или происходит лишь весьма незначительно в виде репарационного цемента (Stahl, 1977; тридцатидневные опыты на крысах).

Нами изучены сепарационные раны десневого пародонта у 200 белых крыс. Срок опытов до 80 дней. Общая динамика эпителизации и восстановления околозубной связки описана нами ранее (Э.-М.Й. Метса, 1976). Предметом настоящего сообщения является репарация дефектов цемента, возникающих при нанесении раны. Так как цемент питается со стороны пародонта, то само рассечение околозубной связки может оказать влияние на жизнеспособность цемента, хотя обширных некрозов его и не наблюдалось.

В течение первых двух-трех недель в дефекте цемента наблюдается резорбция последнего с участием цементокластов, переходящая на дентин. В результате резорбции образуются ниши, наполненные своеобразной грануляционной тканью с базофильными кубовидальными клетками. На границе с обнаженным дентином эти клетки выполняют роль цементобластов.

В исследованные сроки отмечается значительное варьирование репарации бесклеточного цемента от отсутствия всякой репарации до отложения нового тонкого слоя его.

Причиной отсутствия репарации могут служить быстрая апикальная миграция эпителия вдоль обнаженного зуба или параллельная зубу аппозиция регенерированных коллагеновых волокон, замещающих грануляционную ткань в дефекте. Связь этих волокон с зубом относительно непрочная, и конечным результатом может быть, как и при вращении эпителия, образование патологического зубо-десневого кармана.

У других животных с третьей недели наблюдается отложение на дентине лишь новой метахроматической ПАС-положительной полосы, которое начинается на границе с сохранившимся бесклеточным цементом. На метахроматической полосе возможны как параллельная аппозиция регенерирующих околозубных волокон, которая в этом случае более прочная, так и прикрепление и функциональная ориентация их. Последняя происходит лишь в глубине раны.

В глубине раны возможна и более полная репарация бесклеточного цемента с функциональным прикреплением околозубных волокон. Там же наблюдается и отложение клеточного репарационного цемента. Однако даже в глубине раны как бесклеточный, так и репарационный цемент отлагаются в виде относительно тонкого слоя, окаймляющего ниши в дентине. Контур зуба в исследованные сроки не восстанавливается. Лишь на границе с клеточным цементом ниши полностью заполняются клеточным репарационным цементом. Прикрепление околозубных волокон к репарационному цементу относительно непрочное.

В случае более значительных дефектов бесклеточного цемента неповрежденный пародонт подвергается обызвествлению прецементы и гиперцементозу. Иногда гиперцементоз наблюдает-



ся также вдали от раны.

Таким образом, в околозубной связке все-таки имеются клетки, способные к регенерации бесклеточного цемента, но эта регенерация происходит очень медленно. Предпосылкой к ней является обнажение дентина. Интенсивность репарации нарастает в апикальном направлении. Из-за вялости репарации цемента значительного функционального нового прикрепления околозубных волокон не происходит, что создает предпосылки для образования патологического зубо-десневого кармана.

Пока неясно, полностью ли тождествен регенерированный бесклеточный цемент первоначальному.

Необходимы опыты с более длительными сроками наблюдения репарации и углубленное изучение развития цемента у разных видов животных.

При лечении болезней пародонта целесообразно стремиться к возможно большему сохранению бесклеточного цемента.

#### ЛИТЕРАТУРА

Метса Э.-М.И. В кн.: Тканевая биология. Материалы II респ. совещ. Тарту, 1976. - *Schönfeld S.E. J. Dent. Res.*, 1975, 54, 72. - *Stahl S.S. J. Period.*, 1977, 48, 545-552. - *Stahl S.S., Slavkin H.C. In: H.C. Slavkin a. L.A. Bavetta (eds.), Development Aspects of Oral Biology. Acad. Press. N.-Y.*, 1972.

#### К ВОПРОСУ ОБ ИСТОЧНИКАХ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКА

А.Ю. Труупыльд, Ю.К. Кярнер, Т.Н. Труупыльд  
Кафедра патологической анатомии и судебной медицины,  
кафедра генетики и цитологии, НИИ общей и молекулярной  
патологии Тартуского государственного университета

Кора надпочечника у крыс представляет собой орган, в котором имеет место истинная репарация адренокортикальной ткани с зональной дифференцировкой новообразованного коркового вещества. Это происходит при вылушивании (энуклеации) парен-

химии надпочечника через разрез капсулы, после чего под ней сохраняются лишь небольшие островки адренокортикальной ткани. По данным ряда исследователей (Greer a. Deane, 1949; Chester Jones a. Wright, 1954; Г.П.Краснощеков, 1968 и др.), указанные участки неповрежденной секреторной ткани и служат источником регенерации коркового вещества; однако другие авторы (Ingle a. Higgins, 1938; А.А.Войткевич, А.И. Полуактов, 1970 и др.) придерживаются гипотезы капсулярной (субкапсулярной) бластемы.

В настоящей работе обобщаются данные о камбиальных элементах коры надпочечника, полученные А.Ю. Труупыльдом и Т.Н. Труупыльд в разных сериях опытов на более чем 500 крысах с применением модели энуклеированного надпочечника *in situ* и после его пересадки. Фактический материал основывается на динамическом изучении адренокортикального регенерата с помощью количественных гистологических методов (гистотопограммы), функциональной характеристики регенерирующей ткани (гистохимические реакции на липиды, "кетостероиды"), показателей пролиферации и миграции клеток (подсчет МК, гистоавторадиографические исследования с тимидином- $H^3$ ). Кроме того, электронномикроскопически изучены клетки капсулы и подкапсульного слоя в ранние сроки (1-е и 3-е сутки) после энуклеации надпочечника.

Нашими многочисленными опытами установлено, что в условиях энуклеации надпочечников у крыс в образовании адренокортикального регенерата всегда участвуют сохранившиеся под капсулой секреторные клетки. Частично они подвергаются дистрофическим и некробиотическим изменениям, но в основном дедифференцируются и служат источником регенерации. Большинство из них после операции становятся резко базофильными, в их цитоплазме уменьшается содержание биологически активных веществ (липидов, "кетостероидов"), повышается активность синтеза ДНК в ядрах и увеличивается митотический коэффициент.

Электронномикроскопически в сохранившихся адренокортикальных клетках через 1 сутки после энуклеации виден обширный аутофагоцитоз (дедифференциация). Автолизу подвергаются участки цитоплазмы, в частности крупные митохондрии. В

остальной цитоплазме комплекс Гольджи гипертрофирован, митохондрии мелкие, увеличено количество полисом, микротрубочек и окаймленных пузырьков. Эти адренокортикальные клетки образуют между собой длинные зоны контакта, имея эпителиальный вид.

Через 3 суток после операции в адренокортикальных клетках регенерирующего органа видно увеличенное ядрышко с превалирующим гранулярным компонентом и многочисленные полисомы в цитоплазме. Количество ядерных пор увеличено. Просвет цистерн шероховатой цитоплазматической сети умеренно расширен. Размеры митохондрий сильно варьируют, а мелкие диктиосомы в цитоплазме разбросаны.

Соединительнотканые элементы капсулы и внутриорганных прослоек надпочечника претерпевают типичные реактивные изменения, имеющие место при любом повреждении органа. В соединительной ткани появляются макрофаги и большое количество эндотелиальных клеток и фибробластов с крупным ядром и малым количеством органелл в цитоплазме. Эти "возбужденные" клеточные элементы, появляющиеся на всем протяжении капсулы надпочечника и участвующие в фагоцитозе мертвых масс и образовании грануляционной ткани, могут иногда ошибочно приниматься за "переходные формы" в секреторные клетки. В действительности же, по ультраструктурному строению они не идентичны вышеописанным адренокортикальным клеткам на ранних стадиях развития регенерата.

Следует отметить, что образование регенерата ограничивается лишь островками адренокортикальных клеток. В тех местах, в которых под капсулой надпочечника паренхима органа полностью удалена или погибла, регенерация коры отсутствует. Этим обстоятельством и объясняется развитие кортикального регенерата после энуклеации и трансплантации надпочечника в виде более или менее изолированных узловатых образований.

Таким образом, наши данные не подтверждают гипотезу о наличии капсулярной бластемы коры надпочечника.



## ЛИТЕРАТУРА

Войткевич А.А., Полуэктов А.И. Регенерация надпочечной железы. М., "Медицина", 1970. - Красников Г.П. Автореф. дисс. канд. М., 1970. - Chester Jones I., Wright A. J. *Endocrinol.*, 1954, 10, 3, 262-265. - Greer R.O., Deane H.W. *Endocrinology*, 1949, 45, I, 42-56. -INGLE D.J., Higgins G.M. *Amer. J. Med. Sci.*, 1938, 196, 2, 232-239.

### УЛЬТРАСТРУКТУРА ФИБРОБЛАСТОВ И СООТНОШЕНИЕ ФРАКЦИЙ КОЛЛАГЕНА В ГРАНУЛЯЦИОННОЙ ТКАНИ РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ РАН КОЖИ ПРИ ВВЕДЕНИИ КАЛЬЦИТОНИНА

А.Н. Черняев

Кафедра биологии с общей генетикой Калининского государственного медицинского института

В исследованиях, проведенных в нашей лаборатории (Г.В. Хомулло, Т.В. Иваненко, 1977; Г.В. Хомулло, Т.В. Иваненко, В.И. Лотова, 1977; Т.В. Иваненко, 1977), показано, что кальцитонин (КТ) стимулирует пролиферацию клеток фибробластического ряда и эпителиального регенерата, ускоряет формирование зрелой соединительной ткани и, тем самым, ускоряет заживление кожных ран, которое осуществляется преимущественно за счет контракции. В настоящей работе предпринята попытка уточнения механизмов реализации стимулирующего эффекта КТ на регенерацию с позиций влияния этого гормона на процессы коллагено- и фибриллогенеза в грануляционной ткани.

Эксперименты выполнены на 120 белых крысах, на модели полнослойной хирургической раны площадью 225 мм<sup>2</sup>. Контрольным животным ежедневно вводился внутримышечно физиологический раствор, опытным - КТ в суточной дозе 5 ед. Забой животных проводился путем декапитации через 3, 5, 7, 10 и 15 дней после начала эксперимента. Материал для электронмик-

роскопического исследования фиксировался в глутаровом альдегиде и заливался в эпон. Срезы просматривались в электронном микроскопе УЭМВ-100К. Из гомогенизированной грануляционной ткани коллаген экстрагировался последовательно при охлаждении до  $0^{\circ}\text{C}$  0,14 М и 0,45 М раствором поваренной соли и 0,1 М цитратным буфером ( $\text{pH} = 3,5$ ). Количественное определение коллагена в экстрактах, а также нерастворимого коллагена в гомогенате проводилось с помощью методики Лоури в модификации Л.И. Слущкого и И.И. Шелекетиной (1959).

Зрелые, активно синтезирующие коллаген фибробласты оонаруживаются у контрольных животных с пятого дня и во все последующие периоды наблюдения. В условиях введения КТ фибробласты этого типа встречаются уже через 3 дня после операции, а на седьмой день наблюдения являются преобладающими клеточными элементами. При этом отмечается ряд ультраструктурных особенностей, указывающих на их высокую функциональную активность: чрезвычайно хорошее развитие гранулярного цитоплазматического ретикулума, увеличение электроннооптической плотности содержимого его каналов, образование крупных полисомных агрегатов, гипертрофия пластинчатого комплекса, в области которого наблюдается накопление гранул и везикул, быстрое распространение их по цитоплазме и интенсивное выведение через цитолемму за пределы клеток. В поздние сроки наблюдения (10 и 15 дней) при введении КТ характерно почти полное исчезновение активно продуцирующих коллаген клеток и появление большого количества фибробластов, претерпевающих деструктивно-дегенеративные изменения.

Параллельное изучение соотношения фракций коллагена в грануляционной ткани показало, что содержание коллагена, растворимого в 0,14 М растворе хлорида натрия, у контрольных животных в первой половине опыта довольно быстро увеличивается и достигает максимума к седьмому дню наблюдения. В дальнейшем величина этой фракции постепенно уменьшается. В грануляционной ткани крыс, получавших КТ, отмечается более низкое по сравнению с контролем содержание первой солерастворимой фракции через 5 и, особенно, через 7 дней после введения препарата, т.е. в период максимального развития грану-

ляций. Аналогичные закономерности выявляются при изучении второй солерастворимой фракции. Здесь на протяжении всего опыта в грануляционной ткани крыс, получавших КТ, коллагена меньше, чем в контроле. Причем наибольшая разница наблюдается также через 5 и 7 дней. Содержание цитратрастворимого коллагена под влиянием КТ в отличие от солерастворимых фракций, напротив, оказывается через 7 и 10 дней более высоким, чем в контроле. Количество нерастворимого коллагена у контрольных животных находится через 3 и 5 дней на довольно низком уровне, но затем резко возрастает, достигая максимума к десятому дню, и, наконец, несколько снижается через 15 дней к моменту образования рубца. В грануляционной ткани крыс, получавших КТ, уже через 3 дня содержание нерастворимого коллагена оказывается больше, чем в контроле. В последующие периоды наблюдения количество нерастворимого коллагена увеличивается, но менее интенсивно, достигая к десятому дню тех же величин, что и в контроле. Последующее снижение содержания белка по сравнению с контролем оказывается менее выраженным.

Таким образом, полученные нами данные позволяют заключить, что кальцитонин стимулирует секреторную активность фибробластов и ускоряет процессы их дифференцировки, о чем свидетельствуют результаты электронномикроскопического исследования. Избирательная экстракция коллагенов различными растворителями, являющаяся своеобразным отражением процессов агрегации их молекул в фибриллярные структуры (В.И. Мазуров, 1974), обнаружила под влиянием КТ в период максимального развития грануляционной ткани уменьшение содержания легкорастворимых фракций при одновременном увеличении цитратрастворимого и нерастворимого коллагена. Этот факт может свидетельствовать о том, что КТ оказывает стимулирующее действие и на процессы образования коллагеновых волокон.

#### ЛИТЕРАТУРА

И в а н е н к о Т.В. В сб.: Тирокальцитонин: патогенетические основы применения в медицинской практике. Калинин, 1977, с. 42-46. - М а з у р о в В.И. Биохимия коллагеновых бел-



ков. М., 1974. - С л у ц к и й Л.И., Ш е л е к е т и н а И.И. *Вопр. мед. химии*, 1959, 6, с. 466-469. - Х о м у л л о Г.В., И в а н е н к о Т.В. *Арх. анат., гистол. эмбриол.*, 1977, 10, с. 75-81. - Х о м у л л о Г.В., И в а н е н к о Т.В., Л о т о в а В.И. *Бюлл. экспер. биол. мед.*, 1977, II, с. 618-621.

ВЛИЯНИЕ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ НА МОРФОЛОГИЮ И ФУНКЦИЮ  
ФИБРОБЛАСТОВ В РЕПАРАТИВНОЙ ФАЗЕ АСЕПТИЧЕСКОГО  
ВОСПАЛЕНИЯ И ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ РАЗРЕЗОВ КОЖИ

А.И. Радостина

Кафедра гистологии и эмбриологии Университета  
дружбы народов им. П. Лумумбы, Москва

Вопрос о гормональных влияниях, регулирующих репаративные процессы в коже, представляет интерес для специалистов, изучающих морфологию и функцию клеток соединительной ткани, и для клиницистов. Лучше всего изучено действие глюкокортикоидов и их синтетических аналогов (Pratt W, 1972 и др.). Известно тормозящее влияние высоких доз (10 мг и более на 1 кг веса) гидрокортизона на все элементы соединительной ткани. Работ о действии минералокортикоидов на соединительную ткань значительно меньше (В.П. Слюсарчук, 1975 и др.). Как известно, минералокортикоиды, в отличие от глюкокортикоидов, являются провоспалительными гормонами. Установлено стимулирующее влияние эстрогенов на макрофагоческую систему, однако их воздействие на фибробласты почти не изучено.

Задачей настоящего исследования является изучение действия инъекций гидрокортизона (10 мг на 1 кг веса), дезоксикортикостеронацетата (ДОКСА - 2,5 мг на 100 г) и синэстрола (250 М.Е. на 100 г.) на морфологию и функцию фибробластов при заживлении разрезов кожи, а также в репаративной фазе асептического воспаления, вызванного подкожным введением крысе стерильных целлоидиновых шариков. Контролем служили

крысы, оперированные аналогичным образом, но не получавшие гормонов. Материал исследовался на светооптическом и электронномикроскопическом уровнях. Гистохимически выявлена активность кислой фосфатазы по Гомори и методом азосочетания, щелочной фосфатазы по Гомори, СДГ по Нахласу, ЛДГ по Гессу, Скарпелли и Пирсу.

Установлено, что активность СДГ в цитоплазме фибробластов в области разреза кожи в течение первых 3 суток слабая, на 5-7-е сутки становится умеренной, на 10-е несколько ослабевает. Активность ЛДГ в цитоплазме фибробластов в области разреза в ранние сроки значительно слабее активности в интактных участках кожи, на 5-е сутки она становится умеренной, на 10-е выраженной и остается таковой до 21-х суток, когда фибробласты морфологически не отличаются от фибробластов интактной дермы. Активность кислой и щелочной фосфатаз в цитоплазме фибробластов интактной дермы слабая. В области разреза на 5-10-е сутки она значительно усиливается.

Под влиянием гидрокортизона активность СДГ, а также КФ и ЩФ в цитоплазме фибробластов понижается.

Электронная микроскопия на 2-5-е сутки выявляет в контроле признаки высокой синтетической и секреторной активности фибробластов. Гранулярная цитоплазматическая сеть хорошо развита. Ее цистерны слегка расширены, анастомозируют и заполнены умеренно электронноплотным содержимым. В области комплекса Гольджи видны окруженные мембранами пузырьки диаметром 55-60 нм и более, заполненные умеренно электронноплотным содержимым. Это так называемые "внутриклеточные кавеолы". По данным литературы (Goldberg B, Green H, 1964), внутриклеточные кавеолы отличаются от микропиноцитозных пузырьков тем, что последние окружены значительно более электронноплотной мембраной. Кавеолы содержат растворимый коллаген. Можно видеть, как они открываются на поверхность фибробласта. На 7-14-е сутки вокруг инородного тела в контроле формируется капсула, состоящая из плотной фиброзной соединительной ткани. Ядра фибробластов уплощаются. Хроматин ядра более конденсирован. Цистерны цитоплазматической сети становятся короче. Цитоплазма менее обильна и беднее органеллами.

Под влиянием гидрокортизона наблюдается формирование более тонкой капсулы вокруг инородного тела и торможение волокнообразования в рубце. Цитоплазма фибробластов менее обильная и более электронноплотная, чем в контроле в те же сроки. Протяженность цистерн цитоплазматической сети уменьшена. Местами цистерны неравномерно расширены.

Под действием ДОКСА соединительная ткань вокруг инородного тела на 7-е сутки напоминает грануляционную. На поле воспаления присутствует большое количество расширенных тонкостенных сосудов и клеток (фибробласты, мало дифференцированные клетки и др.). Коллагеновые волокна в формирующейся капсуле тонкие и лежат рыхло. На 3-7-е сутки встречаются клетки, имеющие под электронным микроскопом вид, характерный для эмбриональных клеток (большое ядро с дисперсным хроматином; огромное, часто эксцентрично расположенное ядрышко; небольшой объем цитоплазмы со слабо развитыми органеллами). На 14-е сутки имеются признаки довольно высокой секреторной активности фибробластов. В частности, можно наблюдать слияние мембран "кавеол" с плазмолеммой фибробластов и выделение содержимого наружу.

Синаэстрол усиливает фибриллогенез в рубце и вызывает формирование более широкой и плотной капсулы вокруг инородного тела.

Таким образом, гормоны, регулирующие фибриллогенез изменяют активность ферментных систем и влияют на ультраструктуру синтетического и секреторного аппаратов клетки. ДОКСА продлевает период пролиферации клеток в воспалительном очаге и отодвигает фибриллогенез на более поздний срок.

#### ЛИТЕРАТУРА

- С л ю с а р ч у к В.П. Канд. дисс. М., 1975. - G o l d b e r g B., G r e e n H. J. Cell. Biol., 1964, 22, 227-258. - P r a t t W. J. invest. dermatol., 1978, 71, I, 24-35. - V e r o n - R o b e r t s B. The macrophage. Cambridge, 1972.



# СВОЙСТВО ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА ЧЕЛОВЕКА СТИМУЛИРОВАТЬ ОБРАТИМОСТЬ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПЕЧЕНИ

И.М. Солопаева

Горьковский НИИ педиатрии МЗ РСФСР

Хорионический гонадотропин человека (ХГч) вырабатывается клетками трофобласта, появляется в организме только во время беременности и оказывает действие, главным образом, в первую половину этого процесса. Известно, что ХГч оказывает лютеотропный эффект, который состоит в поддержании и последующем развитии желтого тела беременности, ингибирует продукцию ФСГ, чем способствует сохранению беременности, играет существенную роль в регуляции стероидного синтеза матери и плода. Предполагают, что ХГч играет определенную роль и в развитии яичников плода, стимулируя созревание интерстициальных клеток Лейдига.

При изучении влияния ХГч на течение регенерационных процессов в печени обнаружено ранее неизвестное свойство его усиливать пролиферацию гепатоцитов и стимулировать синтез белка в печени.

Доказательством этого свойства гормона является то, что через 1, 2 и 4 сутки после резекции печени у здоровых животных (самцов белых беспородных крыс) и введения им ХГч митотический индекс гепатоцитов в % (МИГ) был равен  $15,8 \pm 2,0$ ;  $6,7 \pm 1,2$ ;  $3,4 \pm 0,8$ ; в контроле у оперированных животных соответственно  $5,8 \pm 1,45$ ;  $5,5 \pm 0,3$ ;  $1,4 \pm 0,27$ . Через сутки после начала опыта разница МИГ в этих группах была достоверной ( $P < 0,01$ ).

В первые сутки после резекции в печени количество нормальных гепатоцитов в поле зрения препарата (КНГ) снижалось до  $17,8 \pm 0,8$  против  $27,8 \pm 0,69$  в норме. Введение ХГч поддерживало этот показатель на более высоком уровне ( $22,6 \pm 0,9$ ). Через месяц после резекции КНГ было  $22,0 \pm 1,55$ , а у животных, получавших ХГч после операции -  $33,0 \pm 2,6$  ( $P < 0,01$ ).

У крыс с циррозом печени в результате введения  $\text{CCl}_4$  в течение 7 месяцев через 2 дня после 30%-й резекции печени МИГ составлял  $5,0 \pm 1,1$ , а у крыс, получавших ХГч после резекции цирротически измененной печени, МИГ был равен  $17,5 \pm 5,3$  (высокую ошибку средней арифметической можно скорее всего объяснить тем, что волна митотической активности гепатоцитов под влиянием ХГч проходит раньше).

Общее КНГ при циррозе печени на высоте патологии составляло 40,3% от КНГ интактных крыс ( $17,5 \pm 0,6$  против  $33,5 \pm 1,5$ ), а количество дегенерирующих клеток оказалось увеличенным на 73% против нормы. В поле зрения цирротически измененной печени крыс через 2, 7, 60 и 120 суток после начала введения ХГч и АТФ (с 4-го дня добавлялось введение регенератора) КНГ составляло  $25,0 \pm 0,1$ ;  $25,7 \pm 0,87$ ;  $27,6 \pm 0,45$ ;  $31,2 \pm 0,98$ , а у нелеченых крыс - соответственно  $16,9 \pm 0,1$ ;  $16,6 \pm 0,6$ ;  $19,5 \pm 1,4$ ;  $23,1 \pm 0,8$ . Эти цифры говорят о том, что через 2 дня ХГч достоверно увеличивает КНГ в цирротически измененной печени и способствует нормализации этого показателя через 4 месяца после начала лечения. Введение ХГч крысам после резекции цирротически измененной печени тоже способствовало более быстрому восстановлению паренхимы печени и обратимости патологических изменений, чем у оперированных животных, не получавших ХГч.

Выраженная пролиферация нормальных гепатоцитов, связанная с синтезом многочисленных структурных компонентов этих клеток, должна быть неизбежно связана с усилением белкового синтеза в органе. Изучение влияния ХГч на содержание белка (общего и водорастворимого) в ткани печени показало, что оно достоверно увеличивается через 2, 4 и 7 суток как после резекции здоровой печени, так и после введения ХГч оперированным животным. Но у крыс, получавших ХГч, нарастание содержания общего белка ткани печени, главным образом за счет водонерастворимого, шло значительно быстрее и уже через 2 дня достоверно отличалось от этого показателя в группе крыс оперированного контроля ( $41,2 \pm 1,3\%$  к сухому остатку печени против  $37,5 \pm 1,0\%$ , при  $P < 0,01$  и при норме в  $32,2 \pm 0,8\%$ ).

Содержание РНК ткани печени через сутки после введения

ХГч здоровым крысам достоверно увеличивалось по сравнению с нормой ( $9,7 \pm 0,23$  мг/г против  $6,3$  мг/г в норме,  $P < 0,01$ ). Через сутки после резекции печени содержание РНК в ткани этого органа тоже увеличивалось ( $10,7 \pm 0,5$ , при  $P < 0,01$  по сравнению с нормой). Через 2 дня у крыс этой группы содержание РНК в ткани печени на единицу сырого веса еще держалось на высоких цифрах ( $10,3 \pm 0,4$  мг/г), а через 7 суток стало равным  $6,7 \pm 0,2$  мг/г.

У крыс, получавших после операции ХГч, выявилось высокое содержание РНК через сутки после операции и начала введения гормона ( $11,6 \pm 0,7$  мг/г,  $P < 0,1$  в сравнении с нормой). В то время как у крыс, получавших ХГч без операции, и у крыс оперированного контроля на 2-е сутки содержание РНК в ткани печени начинает понижаться, у крыс, получавших после операции ХГч, на этот срок отмечается еще более значительное увеличение содержания РНК ( $12,1 \pm 0,5$  мг/г) по сравнению с оперированными крысами, не получавшими ХГч ( $10,3 \pm 0,4$  мг/г). На 7-е сутки после начала введения ХГч содержание РНК продолжало держаться на уровне, несколько выше нормального ( $8,28 \pm 0,2$  мг/г).

Приведенные данные свидетельствуют о способности ХГч стимулировать синтез белка и связанные с ним процессы в печени.

Одновременно с этим понижается содержание альбуминов и суммарное содержание аминокислот в сыворотке крови.

Теоретическое значение обнаруженной закономерной связи ХГч и регенерационных процессов в нормальной и патологически измененной печени заключается в том, что она вносит принципиальные изменения в современные представления о роли и значении ХГч в организме и создает возможность для моделирования стимуляции регенерационных процессов в этом органе.

Практическое значение обнаруженного свойства ХГч стимулировать регенерацию патологически измененной печени и обратимость патологического состояния заключается в том, что появляются перспективы использования этого гормона в качестве средства для регенерационной терапии хронических гепатитов и циррозов печени.



## УЧАСТИЕ ПЕРЕДНЕГО ГИПОТАЛАМУСА В РЕГУЛЯЦИИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В КОСТИ

Б.В. Алешин, Е.Я. Панков, С.Г. Гнидаш, Е.В. Мирошниченко,  
Л.А. Зайченко, И.И. Шеститко, Л.В. Самосудова  
Кафедра гистологии Харьковского медицинского института

Проблема регуляции репаративной регенерации костной ткани имеет большое теоретическое и практическое значение, однако роль состояния высших вегетативных регуляторных центров в этом процессе практически не исследована.

Эксперименты проведены на 120 половозрелых крысах-самцах, характеризующихся относительно стабильным гормональным фоном. У подопытных животных субоперационно проводился перелом бедренной кости с последующим штифтованием полимерным штифтом. Забой животных осуществлялся декапитацией на 7-е, 14-е и 21-е сутки, что соответствовало трем сериям экспериментов. Для гистологического и авторадиграфического изучения иссекался регенерат кости и гипоталамус. Контролем во всех случаях служили интактные животные. Различное функциональное состояние гипоталамуса моделировалось за счет гидратации и дегидратации организма.

Анализ регенератов кости первой серии опытов (7-е сутки) показал отчетливое преобладание клеточно-волоконистой ткани с начальными этапами периостального остеогенеза. ДНК-синтезирующие клетки распределены диффузно в зоне периостального остеогенеза (21,02%) и отчетливо периваскулярно в волоконистой ткани (13,6%). В гипоталамусе супраоптическое ядро в подавляющем большинстве случаев представлено крупными и средними клетками с умеренной мелкозернистой грануляцией. Нейросекрет расположен в цитоплазме равномерно, а в некоторых клетках - более плотно по периферии, что указывает на возрастание функциональной активности супраоптического ядра. Изменения, выявленные в паравентрикулярном ядре, свидетельствуют об ослаблении его функциональной активности.

К 14-у дню опыта увеличение объема регенерата происхо-

дит за счет усиления процесса остеогенеза в периостальной зоне и дифференциации клеток волокнистой ткани. Остеогенная ткань периостальной зоны содержит ДНК-синтезирующие клетки, расположенные периваскулярно и в остеобластическом слое; клеточно-волокнистая ткань с высоким уровнем меченых клеток на границе с дифференцирующимися полями хондроидной и остеонидной ткани. Нейросекреторные процессы в переднем гипоталамусе сохраняют тенденцию, наметившуюся в предыдущей серии. Реакция выражена преимущественно в супраоптическом ядре и проявляется признаками резкого напряжения его функциональной активности. Подавляющее большинство нейронов крупные, набухшие, со светлой вакуолизированной цитоплазмой, свидетельствующей о форсированном выведении нейросекреторного материала. Мелких дегенеративных клеток почти не встречается. Средние размеры супраоптических нейронов намного больше нормальных величин. При изучении паравентрикулярного ядра заметных отклонений от нормы не обнаружено.

На 21-е сутки опыта незначительное увеличение объема регенерата сопровождается отчетливым нарастанием новообразованных костных балочек. Характер распределения ДНК-синтезирующих клеток существенно не изменяется. Изучение нейросекреторных ядер переднего гипоталамуса показало, что направленность реакций сохраняется, однако супраоптическое ядро характеризуется значительным клеточным полиморфизмом. Наряду с крупными светлыми нейронами встречаются темные дегенеративные клетки с плотно расположенными секреторными гранулами и пикнотическими ядрами, что свидетельствует о возрастании функциональной активности этого ядра. Морфоструктура паравентрикулярного ядра указывает на отсутствие отклонений в его функциональной деятельности.

Проведенные исследования показали, что состояние нейросекреторных ядер гипоталамуса на этапах репаративной регенерации кости изменяется закономерно. Изменение функционального состояния гипоталамуса за счет гидратации и дегидратации организма оказало существенное влияние на уровень ДНК-синтезирующих клеток с увеличением их при гидратации в основных тканевых компонентах регенерата на 20-40% (таблица). Таким

образом, определено существование зависимости между функциональным состоянием гипоталамуса и пролиферативными процессами в регенерате кости, что открывает перспективы для использования этой зависимости.

Т а б л и ц а  
Влияние различных функциональных состояний переднего гипоталамуса на ДНК-синтезирующую активность регенерата кости на этапах его формирования

Время после перелома		7-е сутки		14-е сутки		21-е сутки		
Тканевые компоненты	воздействие	норма	дегидратация	гидратация	дегидратация	гидратация	дегидратация	
Остеогенный		21,0	21,4	30,3	14,4	17,5	8,1	8,0
Волокнистый		13,6	12,9	19,9	6,8	12,1	9,8	6,2
Хондрогенный						11,5		9,4

### III. РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

#### ПОПУЛЯЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ТОРМОЖЕНИЯ РАКОВОГО РОСТА ВИТАМИНОМ А

Д.И. Афанасьев, В.И. Ноздрин, О.И. Михайлов  
Кафедра гистологии и эмбриологии I Московского  
медицинского института им. И.М. Сеченова

Показано, что в условиях гипervитаминоза А торможение роста перевивной опухоли осуществляется за счет снижения ее митотической активности и сопровождается активацией иммунной защиты (Ноздрин В.И., Зайцева Т.Б. 1975; Афанасьев Ю.И., Ноздрин В.И., 1977). В настоящем сообщении приводятся результа-



ты изучения пролиферативного пула и изменения реактивности иммунокомпетентной системы при введении ретинилпальмитата и ретиноевой кислоты.

Мышам-самкам линии СВА прививали рак шейки матки (РШМ-5) и вводили ретинилпальмитат и метилретиноат<sup>\*</sup>, как это описано ранее (Афанасьев В.И. и др., 1979). За 5 дней до забоя животных иммунизировали эритроцитами барана и за 18, 12 и 6 часов до забоя вводили по 0,4 мкг <sup>3</sup>H-тимидина.

Срезы окрашивали рутинными красителями, экспонировали с ядерной эмульсией "М" в течение 20 суток; в препаратах просчитывали пролиферативный пул как процентное отношение количества всех клеток к количеству клеток, включивших в свои ядра <sup>3</sup>H-тимидин. Оценку реактивности иммунокомпетентной системы проводили путем определения способности клеток селезенки от иммунизированных и неиммунизированных животных образовывать розетки с эритроцитами барана.

При внутрибрюшинном введении животным ретинолпальмитата отмечено снижение пролиферативного пула РШМ-5 на 31%, а при введении метилретиноата - на 54,3%. Судя по показателям, под действием препаратов росла пространственная неоднородность пролиферативного пула, на что указывает также разброс абсолютных величин вариантов (табл. I). Метилретиноат активировал способность клеток селезенки формировать с эритроцитами барана розетки у интактных животных; у животных-опухоленосителей эта способность была повышенной, однако в ответ на вводимые препараты она практически не изменялась. Предварительная иммунизация в норме повышала в селезенке количество розеткообразующих клеток, однако у животных с привитым РШМ-5 предварительное введение ни гетерологичных эритроцитов, ни изучаемых препаратов не увеличивало содержания розеткообразующих клеток - их количество оставалось в тех же пределах, что и у животных из соответствующих контрольных групп (таблица 2).

Отмечено, что у животных с низкой пролиферативной актив-

---

<sup>\*</sup> Ретинилпальмитат и ретиноевая кислота в форме транс-метил-ретиноата получены из лаборатории синтеза полиеновых соединений Научно-производственного объединения "Витамины" Министерства медицинской промышленности СССР.

Т а б л и ц а    I

Состояние пролиферативного пула (Р) РПМ-5 при внутрибрюшинном введении  
 ретинилпальмитата (РП) и ретиноевой кислоты (РК). Мыши СВА, самки, I4-й  
 день опыта

Воздействие, № животного	Подсчитано всего меченых клеток и Р, %	♂	2 ♂
Интактные			
1.	2071/1284 - 62,0		
2.	2916/1716 - 58,8	19,0	38,1
3.	938/ 891 - 95,0	6,4	12,8
4.	1155/1085 - 93,9	6,8	13,6
5.	2144/1790 - 83,5	10,5	21,0
6.	2123/1550 - 73,0	13,8	27,6
M ± m	77,7 ± 0,4	11,3	22,6
РП-5 мг			
1.	2343/1284 - 54,8	5,3	10,6
2.	1637/1078 - 65,9	14,3	28,6
3.	1953/1327 - 67,9	13,0	26,0
4.	2021/ 495 - 24,5	12,4	24,8
5.	2694/1549 - 57,5	16,8	33,6
M ± m	53,6 ± 0,5	12,4	24,8
РК-0,28 мг			
1.	1377/1085 - 78,6	10,2	20,4
2.	1712/ 693 - 40,5	18,1	36,2
3.	1377/ 131 - 9,5	6,1	12,2
4.	1088/ 226 - 20,8	13,0	26,0
5.	1800/ 463 - 25,7	13,3	26,6
6.	1336/ 530 - 39,7	18,0	36,0
7.	1117/ 568 - 51,0	13,3	26,6
M ± m	35,5 ± 0,5	13,1	26,2

Т а б л и ц а 2

Способность клеток селезенки к спонтанному и стимулированному эритроцитами барана розеткообразованию (РОК) при внутрибрюшинном введении ретинилпальмитата (РП) и ретиновой кислоты (РК). Мыши СВА, самки  
14-й день опыта, РШМ-5

№ опыта	Воздействие	Стимуляция эритроцитами	Количество РОК на 1 млн клеток селезенки
1.	Интактные	-	25±6
	РК-0,28 мг	-	112±6
2.	Интактные	-	25±6
	РШМ-5	-	74±12
	РШМ-5 + РК-0,28 мг	-	76±11
	РШМ-5 + РП-5,0 мг	-	75±12
3.	Интактные	+	84±8
	РШМ-5	+	71±4
	РШМ-5 + РК-0,21 мг	+	95±17
	РШМ-5 + РП-0,3 мг	+	75±20

ностью опухоли ее строма интенсивно инфильтрирована нейтрофильными лейкоцитами, включающими в ДНК  $^3\text{H}$ -тимидин - признак амплификации, отражающий интенсификацию функции клетки (Ноздрин В.И., Бахлинян М.З., 1979). Отсюда следует, что снижение пролиферативного пула не только опосредуется иммунокомпетентными клетками. Вполне вероятно, что оба препарата действуют непосредственно на синтезирующие ДНК опухолевые клетки. Однако эти данные не позволяют исключить того, что противоопухолевое действие препаратов опосредовано активированной системой доиммунной защиты - полинуклеарными фагоцитами.



## ЛИТЕРАТУРА

Афанасьев Д.И., Ноздрин В.И. Вопросы онкологии, 1977, 1, с. 53-58. - Афанасьев Д.И., Ноздрин В.И., Перилов А.А. Вопросы онкологии, 1979, 12, с. 84-86. - Ноздрин В.И., Бахшинян М.З. Успехи современной биологии, 1979, 87, вып. I, с. 148-150. - Ноздрин В.И., Зайцева Т.Б. В сб.: Иммунология опухолей. Тезисы докладов симпозиума. Киев, 1975, с. 190-191.

### ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЭПИДЕРМАЛЬНЫХ КЕЙЛОНОВ В ПРОЦЕССЕ КОЖНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА, ИНДУЦИРОВАННОГО МЕТИЛНИТРОЗОМОЧЕВИНОЙ

С.А. Кетлинский

Лаборатория экспериментальной гистологии  
Института экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

В настоящее время принято считать (Houck, 1976; Balazs, 1979; Кетлинский, 1978, 1980), что тканевый гомеостаз в обычных условиях поддерживается с помощью тканеспецифических ингибиторов клеточной пролиферации (кейлонов), которые осуществляют связь между пролиферирующими и дифференцированными клетками. Однако не до конца ясен вопрос, как изменяется кейлонная регуляция при регенерации или опухолевой трансформации тканей. В ряде работ (Rohrbach и др., 1972, 1974, 1976) показано, что после однократной обработки кожи мышей метилхолантrenom активность выделенных из нее кейлонов резко понижается. При обсуждении механизмов этого понижения авторы высказывают предположение о прямом воздействии канцерогена на молекулу кейлона, приводящем к связыванию активного центра ингибитора.

В настоящей работе сделана попытка исследовать механизмы отсутствия активности эпидермальных кейлонов, выделенных из кожи крысы в различные сроки после обработки ее канцерогеном.

ном *N* -метил-*N* -нитрозомочевинной (МНМ). При этом основное внимание уделено морфологическому анализу ткани, явившейся источником кейлонов. Полученные результаты показали, что через 1, 2, 3 и 5 суток после однократного воздействия МНМ наблюдается выраженное подавление митотической активности эпидермоцитов. Гистологический анализ этой кожи выявил, что через 1 сутки после воздействия канцерогеном в базальном слое наблюдаются гибнущие клетки, единичные митозы с выраженным слипанием хромосом. В дерме обнаруживаются явления воспаления. Через 2 суток гистологическая картина не изменяется. С третьих суток начинается восстановление целостности эпидермиса и репарация токсического повреждения клеток. Определение биологической активности кейлонов, выделенных из кожи в момент наибольшего ее повреждения, показало, что она резко понижена.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что нарушение кейлонной регуляции происходит на фоне деструкции эпидермиса, вызванной неспецифическим цитотоксическим действием канцерогена.

Для подтверждения этого положения была использована модель регенерации эпидермиса, позволяющая без каких-либо химических воздействий и значительных повреждений ткани изучать репаративный процесс. Через 1 сутки после нанесения регенераторного стимула (выщипывания волос) митотическая активность эпидермоцитов в 3,6 раза превышает контрольный уровень, а затем постепенно понижается, достигая нормы к 5-ым суткам. При гистологическом анализе выявляются лишь незначительно повышенная базофилия клеток эпителиального пласта и умеренное воспаление в дерме. Кейлоны, выделенные из кожи в различные сроки после выщипывания, оказались неактивными лишь на суточном сроке, что совпадает с резкой стимуляцией пролиферации.

Сравнение двух серий опытов показывает, что изменение биологической активности кейлонов может быть вызвано разными способами, и оно не носит специфического характера.

Естественно, что наиболее интересными являются данные об ослаблении тканеспецифического контроля за пролиферацией при

обработке ткани канцерогеном, так как они позволяют предполагать, что описанный феномен играет определенную роль в обеспечении выхода трансформированных клеток из-под тканевого влияния. Однако эти данные не содержат достаточной информации для аргументации и обоснования высказанного предположения, так как однократная аппликация канцерогена к коже не приводит к возникновению опухоли.

В связи с этим предпринята попытка изучить биологическую активность эпидермальных кейлонов при такой схеме обработки кожи канцерогеном, которая приводит к образованию эпидермальных раков. Как и в описанных выше опытах, мы обращали особое внимание на морфологию кожи, подвергнутой обработке МНМ.

Показано, что при канцерогенезе в эпидермисе происходят изменения, которые могут быть разделены на три основных этапа. Первый (1-3 недели смазывания МНМ) этап характеризуется наличием токсических проявлений в эпидермисе и последующей их ликвидацией. На втором этапе (4-5 недель смазывания МНМ) происходит появление выраженной гиперплазии эпидермиса. Третий (1,3 и 5 месяцев после пятинедельного смазывания) этап характеризуется обратным развитием гиперплазии и появлением опухолей. Биологическая активность эпидермальных кейлонов, полученных из обработанной МНМ кожи, сохраняется на нормальном уровне в течение первого этапа. С появлением гиперплазии эпидермиса (2 этап) она оказывается сниженной. С началом третьего этапа активность кейлонов возвращается.

Таким образом, результаты, представленные в настоящей работе, позволяют с большой долей вероятности предположить, что снижение активности кейлонов связано не со специфическим действием канцерогенов, а с их промоторными свойствами. На фоне гиперплазии эпидермиса, повышенной пролиферации его клеток, сопровождающейся падением ингибирующей активности эпидермальных кейлонов, создаются условия для мутагенного действия канцерогена и выхода трансформированных клеток из-под тканеспецифического местного контроля пролиферативной активности.



## ЛИТЕРАТУРА

- К е т л и н с к и й С.А. Арх. патол., 1978, 40, 3, 3-13. -  
К е т л и н с к и й С.А. Арх. анат., 1980, 78, I, 29-49. -  
В а л а з з А. Control of cell proliferation by endogenous  
inhibitors. Kiado. Budapest. 1979. - Н о у с к Т. (ed.)  
Chalones. Elsevier Press, 1976.

### КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ГЕПАТОЦИТОВ МЫШЕЙ-НОСИТЕЛЕЙ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ГЕПАТОМ С РАЗНОЙ СКОРОСТЬЮ РОСТА

Т.И. Вейдебаум, Э.И. Пылдвере  
Институт экспериментальной и клинической  
медицины МЗ ЭССР, Таллин

Известно, что в печени животных-опухоленосителей возникают определенные морфологические и метаболические сдвиги. Одним из таких четких изменений печени у животных как со спонтанными, так и перевиваемыми опухолями является увеличение веса органа с параллельным уменьшением активности и изменением изоферментного состава некоторых ключевых ферментов антагонистических путей синтеза и распада различных веществ (Weber et al., 1978).

Цель настоящей работы заключается в том, чтобы выявить количественные различия в ультраструктуре гепатоцитов у мышей линии СЗНА, которым были перевиты гепатомы различной скорости роста и степени дифференцировки, полученные от одной исходной опухоли 1676 (Э.И. Пылдвере, Т.И. Вейдебаум, 1980).

Опыты проведены на 20 мышках-самцах линии СЗНА, которые разделены на четыре группы, по 5 мышей в каждой. Одна из групп служила контролем, а другим были перевиты гепатомы 1676-51 (среднее генерационное время 30 дней), 1676-4 (4 мес.) и 1676-6 (10 мес.). Животных умерщвляли, когда размер опухо-

лей достигал 1,5-2 см в диаметре. Кусочки печени для электронномикроскопического изучения обрабатывали обычным путем. От каждого животного изготавливали по 5 блоков. Морфометрический анализ проведен по методике Weibel (1969). Объемные плотности гепатоцитов и их ядер определены на полутонких срезах (по 15 срезов из каждой группы), а объемные плотности цитоплазматических структур - на 25 случайно выбранных электрограммах от каждой группы (окончательное увеличение 28000х). Все результаты обработаны статистически по Стъуденту. Различия между средними величинами считались достоверными при  $p < 0,05$ .

Результаты морфометрического анализа приведены в таблице.

Выяснилось, что объем гепатоцитов во всех группах мышей-опухоленосителей увеличивался, в то время как объемы их ядер по сравнению с гепатоцитами контрольных животных варьировали недостоверно. Особенно следует подчеркнуть уменьшение объемной плотности микротелец, причем у мышей с более дифференцированными гепатомами их объемы уменьшились больше четырех раз. Объем эндомембранной системы уменьшился достоверно только в гепатоцитах мышей с высокодифференцированной гепатомой I676-6, как и количество гликогена. Объем лизосом, в свою очередь, увеличился в гепатоцитах у всех групп опухоленосителей, хотя у мышей с гепатомой I676-6 он достоверно не отличался от контрольных клеток. Таким образом, в гепатоцитах мышей-носителей перевиваемых гепатом с разной скоростью роста и степенью дифференцировки особенно четкие различия (по сравнению с контрольными гепатоцитами) обнаружались при наличии высокодифференцированной гепатомы: в этих гепатоцитах происходило обеднение цитоплазмы. Последнее свидетельствует о дисфункции печени у животных с высокодифференцированной гепатомой, что может произойти благодаря замещению некоторых процессов анаболизма и катаболизма в печени опухоленосителя теми же процессами в клетках гепатомы.

Т а б л и ц а

Объемные плотности гепатоцитов и их компонентов в  $1 \text{ мм}^3$  ткани печени у мышей  
СЗНА - носителей гепатом линии I676 с разной скоростью роста

Компоненты	Контроль	I676-5I	I676-4	I676-6
Гепатоциты	$0,691 \pm 0,028$	$0,792 \pm 0,034$	$0,786 \pm 0,029$	$0,778 \pm 0,031$
Ядра	$0,062 \pm 0,007$	$0,068 \pm 0,008^*$	$0,061 \pm 0,009^*$	$0,072 \pm 0,008^*$
Митохондрии	$0,171 \pm 0,011$	$0,196 \pm 0,014$	$0,198 \pm 0,016$	$0,161 \pm 0,018^*$
Эндоплазматическая система	$0,302 \pm 0,037$	$0,352 \pm 0,041^*$	$0,276 \pm 0,038^*$	$0,224 \pm 0,028$
Лизосомы	$0,006 \pm 0,001$	$0,014 \pm 0,002$	$0,012 \pm 0,003$	$0,008 \pm 0,003^*$
Микротельца	$0,016 \pm 0,002$	$0,011 \pm 0,002$	$0,004 \pm 0,001$	$0,003 \pm 0,002$
Гликоген	$0,123 \pm 0,026$	$0,121 \pm 0,024^*$	$0,094 \pm 0,018^*$	$0,038 \pm 0,014$
Цитоплазма со свободными рибосомами	$0,011 \pm 0,003$	$0,040 \pm 0,004$	$0,141 \pm 0,021$	$0,272 \pm 0,030$

П р и м е ч а н и е: \* - отличие от контроля не достоверно ( $p > 0,05$ ).



Пылдвере Э.И., Вейдебаум Т.И. Цитология, 1980, 22, 816-822. - Weber G., Kizaki H., Shiotani T., Tzeng D., Williams J.C. In: Morris hepatomas: mechanisms of regulation. (ed. by Morris H.P., Criss W.E.), N.Y.-Lond.: Plenum Press, 1978, 89-116. - Weibel E.R. Int. Rev. Cytol., 1969, 26, 235-302.

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК  
В КОРКОВОМ ВЕЩЕСТВЕ НАДПОЧЕЧНИКА И В АДЕНОГИПОФИЗЕ  
КРЫС В НОРМЕ И ПРИ РЕАКЦИИ СТРЕСС

В.К. Перт

Кафедра физиологии Тартуского  
государственного университета

Имеющиеся в литературе данные (Endreczi, 1958; Голиков, 1970; Голиков, 1973 и др.) показывают, что функциональная активность органов гипофиз-адреналовой системы подчинена сезонным колебаниям. Менее разработан вопрос о сезонной динамике пролиферативной активности клеток в указанных органах.

В настоящей работе изучены сезонные колебания митотического коэффициента в аденогипофизе и в различных зонах коркового вещества надпочечника в норме и при реакции стресс.

Опыты проведены на 173 белых крысах-самцах весом от 200 до 300 граммов. Животных умерщвляли ежемесячно в районе 23-го числа в 12 часов дня. Количество забитых в каждый срок крыс колебалось от 6 до 12. Стресс-реакцию вызывали при помощи 6%-ного раствора формалина, который вводили внутривентрально в течение 4 дней. Разовые дозы равнялись соответственно 0,25 мл, 0,25 мл, 0,5 мл и 0,5 мл. Крыс забивали через 72 часа после последней инъекции формалина. Митотический индекс на 1000 клеток вычисляли при помощи гистотопограмм (Труупыльд, 1973). При этом отдельные клеточные формы в адено-

Т а б л и ц а

Сезонные изменения МК (в %) клеток различных зон коры  
надпочечника и аденогипофиза крыс в норме и при  
реакции стресс

Месяц	Клубочковая зона		Пучково-сетчатая зона		Аденогипофиз	
	контроль	стресс	контроль	стресс	контроль	стресс
Январь	0,09 ± 0,03	0,39 ± 0,10	0,14 ± 0,03	0,46 ± 0,10	0,11 ± 0,06	0,11 ± 0,02
Февраль	0,41 ± 0,10	0,35 ± 0,11	0,17 ± 0,05	0,41 ± 0,12	0,08 ± 0,02	0,41 ± 0,15
Март	0,22 ± 0,05	0,45 ± 0,09	0,08 ± 0,02	0,67 ± 0,12	0,36 ± 0,08	0,15 ± 0,03
Апрель	0,30 ± 0,07	0,65 ± 0,22	0,47 ± 0,09	0,77 ± 0,16	0,24 ± 0,06	0,07 ± 0,03
Май	0,91 ± 0,21	0,29 ± 0,07	0,33 ± 0,13	0,39 ± 0,06	0,38 ± 0,07	0,07 ± 0,03
Июнь	0,33 ± 0,08	0,09 ± 0,07	0,14 ± 0,03	0,17 ± 0,05	0,16 ± 0,04	0,07 ± 0,01
Июль	0,15 ± 0,05	0,11 ± 0,08	0,28 ± 0,09	0,32 ± 0,11	0,27 ± 0,07	0,14 ± 0,05
Август	0,60 ± 0,10	0,33 ± 0,10	0,17 ± 0,03	0,40 ± 0,07	0,18 ± 0,03	0,08 ± 0,02
Сентябрь	0,06 ± 0,02	0,29 ± 0,12	0,14 ± 0,03	0,31 ± 0,10	0,04 ± 0,00	0,12 ± 0,05
Октябрь	0,35 ± 0,06	0,48 ± 0,14	0,41 ± 0,05	0,48 ± 0,13	0,11 ± 0,03	0,07 ± 0,02
Ноябрь	0,54 ± 0,16	0,57 ± 0,18	0,16 ± 0,02	0,36 ± 0,19	0,10 ± 0,02	0,14 ± 0,04
Декабрь	0,21 ± 0,06	0,32 ± 0,07	0,30 ± 0,04	0,51 ± 0,12	0,05 ± 0,00	0,13 ± 0,04
Среднее	0,33 ± 0,04	0,37 ± 0,04	0,24 ± 0,02	0,42 ± 0,04	0,15 ± 0,02	0,11 ± 0,11

гипофизе не дифференцировались.

Результаты работы приведены в таблице.

Как видно, в годовом цикле клубочковой зоны коры надпочечника можно выделить два подъема митотической активности. Первый из них наблюдался в мае месяце, второй в октябре-ноябре. Формалиновый стресс заметного изменения пролиферативной активности в клубочковой зоне не вызывает. При этом подъемы митотической активности в весеннее и осеннее время сохраняются.

В пучково-сетчатой зоне коры надпочечника также устанавливается два достоверных подъема пролиферативной активности. Один из них наблюдается весной в апреле месяце, второй - в октябре. Состояние стресса вызывает повышение митотической активности во все исследованные сроки, а среднегодовые величины митотического коэффициента подопытной и контрольной групп различаются достоверно. При этом сезонная динамика процесса в общих чертах сохраняется.

В аденогипофизе контрольных крыс высокие показатели пролиферативной активности наблюдаются весной и летом (от февраля до августа), а низкие - осенью и зимой (от сентября до февраля). Формалиновый стресс вызывает некоторое понижение митотической активности в аденогипофизе, хотя среднегодовые показатели митотического коэффициента контрольной и подопытной групп различаются недостоверно. Сезонные различия пролиферативного процесса при стрессе сглаживаются.

В итоге можно сказать, что формалиновый стресс вызывает достоверное повышение пролиферативной активности только в пучково-сетчатой зоне коры надпочечника. При этом сезонный ритм процесса в отдельных зонах коркового вещества сохраняется. В аденогипофизе стрессированных крыс сезонные различия митотического коэффициента выражены гораздо меньше, чем у контрольных крыс, хотя полного исчезновения ритма мы и не наблюдали.

#### ЛИТЕРАТУРА

Г о л и к о в П.П. Журн. общей биол., 1970, 31, 1, 106-110.  
- Г о л и к о в А.П., Г о л и к о в П.П. Сезонные биорит-



мы в физиологии и патологии. М., 1973. - Труупыльд  
А.Ю. Арх. анат., 1973, 65, II, 59-66. - Endgosi E.  
Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., 1958, 14, 4, 359.

РЕАКТИВНЫЕ ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В  
АДЕНОГИПОФИЗЕ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ  
ВРЕМЕННОЙ АДРЕНКОРТИКАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

А.Ю. Труупыльд

Кафедра патологической анатомии и судебной медицины  
Тартуского государственного университета

Целью настоящей работы является изучение пролиферативной активности клеток аденогипофиза крысы в разные сроки после повреждения (энуклеации) обоих надпочечников, а также после операции с нанесением ожога печени. Следует отметить, что хорошо известны изменения митотической активности и синтеза ДНК в клетках аденогипофиза после удаления таких периферических эндокринных желез, как щитовидная железа, гонады, надпочечники (Messier, 1969; Goluboff et al., 1970; Gosbee et al., 1970; Städtler et al., 1970; Sano a. Sasaki, 1971 и др.). В то же время данные о пролиферативной активности клеток аденогипофиза в условиях наличия очаговых повреждений и их репаративной регенерации в различных органах, в том числе и эндокринных, отсутствуют.

В работе изучены митотическая активность и интенсивность синтеза ДНК в ядрах клеток аденогипофиза у взрослых белых крыс-самцов в следующих сериях опытов: 1) нанесение раны (термический ожог) печени (67 крыс, из которых 23 за I час до забоя введен тимидин- $H^3$  из расчета I мкюри на I г веса животного), 2) билатеральная энуклеация надпочечников (61 крыса, из них тимидин- $H^3$  введен I7 животным) и 3) комбинированное повреждение (энуклеация надпочечников + рана печени) (64 крысы, из которых тимидин- $H^3$  введен 20). Животных умерщв-

ляли через 1, 3, 6, 12 и 30 суток после оперативных вмешательств. Контролем служили 14 неоперированных крыс, причем 9 из них введен тритированный тимидин.

О локализации митозов и меченых тимидином- $H^3$  ядер в гистологических срезах аденогипофиза судили с помощью гистотопографических рисунков. Оказалось, что митозы и меченые ядра распределены в аденогипофизе равномерно как при нормальной, так и при повышенной интенсивности пролиферативных процессов.

Количественный анализ митозов и меченых тимидином- $H^3$  ядер клеток аденогипофиза проводили на протяжении одного гистологического среза органа, причем общее количество подсчитанных клеток составляло не менее 14000. Митотический коэффициент (МК) и индекс меченых ядер (ИМ) вычисляли в промилле. Средние показатели МК и ИМ для аденогипофизарных клеток у неоперированных крыс были равны соответственно  $0,32 \pm 0,06$  ‰ и  $0,58 \pm 0,12$  ‰.

В I серии опытов (операция с нанесением ранч печени) во все сроки исследования митотическая активность и интенсивность синтеза ДНК в ядрах аденогипофизарных клеток находятся в пределах контрольного уровня. Разница между показателями МК и ИМ состоит лишь в том, что последние несколько (примерно в 2 раза) выше первых.

Во II серии опытов (двусторонняя энуклеация надпочечников) МК в аденогипофизе после операции в значительной степени повышается, достигая максимума через 6 суток ( $1,32 \pm 0,19$  ‰,  $p < 0,01$ ). В дальнейшие сроки опыта митотическая активность клеток возвращается к исходному уровню. Следует отметить, что в этой серии опытов нет параллелизма между изменениями МК и ИМ. Если наибольшая митотическая активность клеток отмечается через 6 суток, то наиболее высокий показатель синтеза ДНК имеет место уже через 3 суток после операции ( $3,61 \pm 1,06$  ‰,  $p < 0,002$ ). Статистически достоверное повышение включения тимидина- $H^3$  в ядра аденогипофизарных клеток наблюдается и через 12 суток ( $1,45 \pm 0,14$  ‰,  $p < 0,001$ ). Однако отмеченный относительно низкий показатель ИМ через 6 суток ( $1,11 \pm 0,38$  ‰,  $p > 0,1$ ) не совсем понятен и требует дальнейшей проверки.

В III серии (энуклеация надпочечников + рана печени) точно так же, как и во II серии опытов, имеет место реактивное повышение митотической активности клеток аденогипофиза. Максимальный МК ( $1,14 \pm 0,15$  ‰,  $p < 0,02$ ) наблюдается через 6 суток. В то же время весьма высокие показатели синтеза ДНК отмечены через 3 ( $8,10 \pm 0,93$  ‰,  $p < 0,001$ ) и 6 суток ( $7,42 \pm 0,88$  ‰,  $p < 0,001$ ), а статистически существенное повышение ИМ имеет место даже через 12 суток ( $1,57 \pm 0,23$  ‰,  $p < 0,001$ ) после операции. Следовательно, при выявлении реактивных пролиферативных изменений в аденогипофизе интенсивность синтеза ДНК в ядрах клеток является более чувствительным критерием, чем их митотическая активность.

Интересно отметить, что через 3 суток (не говоря уже о сроке в 6 суток) синтез ДНК в аденогипофизарных клетках в III серии опытов достоверно выше ( $p < 0,01$ ), чем во II серии. При анализе митотической активности соответствующей разницы между результатами этих двух серий опытов не выявлено.

Таким образом, можно считать доказанным, что двусторонняя энуклеация надпочечников у белых крыс вызывает весьма четкое реактивное повышение пролиферативной активности клеток аденогипофиза. Это изменение наиболее отчетливо выражено в ранние сроки (через 3 и 6 суток) после операции, причем по сравнению с митотической активностью более чувствительным показателем является интенсивность синтеза ДНК в ядрах аденогипофизарных клеток. На основании этого критерия можно утверждать, что при повреждении надпочечников в комбинации с другой операцией реактивные изменения в аденогипофизе выражены в большей степени, чем при повреждении только надпочечников. Эти реактивные изменения могут быть связаны со стимуляцией не только функции, но и пролиферативных процессов в аденогипофизе вследствие понижения содержания кортикостероидов в крови после удаления значительной части коры надпочечников и усиления реакции стресс, вызванного комбинированной операционной травмой.



## ЛИТЕРАТУРА

Goluboff L.G., Mac Rae M.E., Ezrin C., Sellero E.A. *Endocrinology*, 1970, 87, 6, 1113-1118. - Gombos J.L., Kraicer J., Kastin A.J., Schally A.V. *Endocrinology*, 1970, 86, 3, 560-567. - Messier B. *Acta endocr. (Kbh)*, 1969, 61, 1, 133-136. Sano M., Sasaki F. J. *Endocrinol.*, 1971, 50, 4, 705-706. - Städtler F., Stöcker E., Dhon G., Tistze H.U. *Acta endocr. (Kbh)*, 1970, 64, 2, 324-338.

### О ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА В УСЛОВИЯХ ОДНОВРЕМЕННОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ И РАНЫ ПЕЧЕНИ У БЕЛЫХ КРЫС

П.О. Роосаар

Кафедра анатомии и гистологии Тартуского  
государственного университета

Влияние гормонов коры надпочечников на физиологическую регенерацию слизистой оболочки желудка мало изучено. По литературным данным, влияние гормонов на обновление клеток слизистой оболочки разных органов является различным (Л.Д. Лизнер, 1977; L.R. Johnson, 1979 и др.).

В настоящей работе на 70 молодых половозрелых белых крысах-самцах исследовалась физиологическая регенерация шейных клеток (мукоцитов) фундальных желез и фибробластов собственного слоя слизистой оболочки желудка путем определения митотического коэффициента (МК) и индекса меченых ядер (ИМЯ)  $^3\text{H}$ -тимидином; проведен также количественный анализ тучных клеток в слизистой оболочке в опытах продолжительностью в 3, 6 и 12 суток. Парафиновые срезы из фундальной части желудка окрашивались обзорными методами, ализановым синим и методом Фельгена. Радиоавтографы готовили при помощи фотоэмульсии типа "М".

У интактных животных МК в мукоцитах составлял  $3,14 \pm 0,32\%$ , ИМЯ - соответственно  $164,1 \pm 17,6\%$ . Нанесение раны печени у крыс не вызывает существенных изменений в МК и ИМЯ мукоцитов. Двусторонняя энуклеация надпочечников несколько снижала пролиферативную активность мукоцитов, но статистическая достоверность выявлена только в 12-суточных опытах (МК  $1,51 \pm 0,51\%$ , ИМЯ  $70,0 \pm 6,3\%$ ;  $p < 0,01$ ). Такие же результаты получены при одновременном нанесении раны печени и энуклеации надпочечников, статистическая достоверность наблюдалась также только в 12-дневных опытах ( $p < 0,01$ ).

В фибробластах собственной пластинки отмечалась такая же динамика, как и в мукоцитах, ИМЯ у интактных животных составлял  $7,11 \pm 0,64\%$ , нанесение только раны печени не изменяло активность синтеза ДНК в ядрах фибробластов. При одновременном нанесении раны печени и двусторонней энуклеации надпочечников (ИМЯ  $3,41 \pm 5,00\%$ ;  $p < 0,45$ ) или только энуклеации надпочечников синтез ДНК понижался (ИМЯ  $3,1 \pm 5,7\%$ ;  $p < 0,05$ ).

Исследование количества тучных клеток в слизистой оболочке желудка показало, что при двусторонней энуклеации имеет место тенденция к увеличению числа тучных клеток, однако статистически достоверная разница по сравнению с интактными крысами наблюдалась только в 3-суточных опытах ( $p < 0,01$ ).

Следовательно, двусторонняя энуклеация надпочечников обуславливает понижение пролиферативной активности камбиальных клеток фундальных желез и фибробластов в слизистой оболочке желудка, причем наиболее заметные сдвиги наблюдаются в опытах продолжительностью в 12 суток. К этому времени значительная часть адренокортикальной ткани уже восстанавливается. По данным А.Ю. Труупыльда (1969) и Т.Н. Труупыльд (1978), 45% коркового вещества энуклеированных надпочечников восстанавливается к 14-у дню, а регенерация коры практически заканчивается к 20-у дню опыта.

#### ЛИТЕРАТУРА

Л и о з н е р Л.Д. Новое в учении о регенерации. М., "Медицина", 1977. - Т р у у п ы л ь д А.Ю. Автореф. дисс.докт.

мед. наук. Тарту, 1969. - Т р у у п ы л ь д Т.Н. Автореф.  
дисс. канд.мед. наук. Тарту, 1978. - J o h n s o n L.R.  
World J. Surg., 1979, 3, 477-487.

О ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ЭПИТЕЛИЯ КРИПТ  
ТОНКОЙ КИШКИ В УСЛОВИЯХ ЭНУКЛЕАЦИИ  
НАДПОЧЕЧНИКОВ И ОЖОГА ПЕЧЕНИ

В.А. Силласту

Кафедра патологической анатомии и судебной медицины  
Тартуского государственного университета

Эпителий кишечника является одним из наиболее быстро обновляющихся клеточных систем. Поэтому его нередко используют для исследования изменений клеточной пролиферации при различных воздействиях, например, воздействии облучением, пищевого режима, голодания, различных гормонов (Т.Б. Тимашкевич, 1978). Целью нашей работы является изучение физиологической регенерации эпителия в криптах тонкой кишки в разные сроки после двусторонней энуклеации надпочечников и нанесения ожога печени.

Опыты проведены на 70 половозрелых крысах-самцах. Животные были разделены на 4 группы: I - контрольная (9), II - опыты с ожогом печени (23), III - двусторонняя энуклеация надпочечников (16), IV - двусторонняя энуклеация и ожог печени (22). Продолжительность опытов после операции составляла 3, 6 и 12 дней. За час до забоя животным вводили внутривенно тимидин-Н<sup>3</sup> в дозе 1 мкКи на 1 г веса. Использовались следующие автордиографические методы (описаны U. Löhrs и H. Arnold, 1976): процент меченых ядер из тотального количества клеток в крипте (тотальный индекс меченых ядер - ТИМЯ) и процент меченых ядер из количества клеток в регенерационной зоне (корректированный индекс меченых ядер - КИМЯ). Регенерационная зона (РЗ) - это область крипты от дна до наивысшей



меченой клетки эпителия (%). Митотический индекс (МИ) определяли для всей клеточной популяции крипт ( $^{\circ}/_{\text{оо}}$ ). Полученные результаты подвергнуты статистической обработке.

Основные данные исследования представлены в таблице.

У контрольных крыс общее количество клеток в крипах составляло  $96,8 \pm 2,8$ . Через 3 суток отмечено достоверное уменьшение количества клеток во всех сериях опытов. В дальнейшие сроки существенных различий по сравнению с контролем не выявлено.

Среднее значение РЗ у контрольных животных -  $67,2 \pm 2,6^{\circ}/_{\text{оо}}$ . Во всех сериях опытов и во все сроки РЗ оказывалась достоверно ниже, чем в контроле ( $P < 0,05$  или  $P < 0,001$ ).

Односторонние изменения выявляются и в величине ТИМЯ. У контрольных крыс он равен  $30,6 \pm 2,4$ . В опытах с ожогом печени особых различий не обнаружено. Но в III и IV группах во все сроки отмечено уменьшение ТИМЯ по сравнению с контролем. Различия были достоверными, за исключением IV группы в 3-дневных опытах. Менее выраженными оказались изменения КИМЯ. У контрольных крыс почти половина клеток РЗ были мечеными ( $45,2 \pm 2,2$ ). Средние II и IV групп существенно не отличались от контроля. В III группе обнаружено уменьшение КИМЯ, достоверное в 6- и 12-дневных ( $P < 0,01$ ), но не существенное в 3-дневных опытах ( $P > 0,05$ ), очевидно в связи с сильными колебаниями у отдельных животных.

МИ составлял у контрольных животных  $27,4 \pm 1,4^{\circ}/_{\text{оо}}$ . Изменения в опытных группах были не однотипны и зависели от группы. Во II и IV группах МИ соответствовал контролю или был повышен. В III группе во все сроки средние МИ оказались меньше контроля, не достоверным было различие лишь в 3-дневных опытах.

Таким образом, в приведенных опытах выявлено угнетение пролиферативной активности энтероцитов. Интенсивность изменений зависит от характера и продолжительности опыта: более выражены они при энуклеации, менее - при ожоге печени. Но весьма возможно, что главную роль в сдвигах играет изменение длительности митотического цикла, доказанное в отношении энтероцитов под влиянием гормонов надпочечников С.С. Лагучевым (1975).

Т а б л и ц а

РЗ, ТИМЯ, КИМЯ и МИ в криптах тонкой кишки ( $\bar{x} \pm m$ )

Срок	Группа	РЗ	ТИМЯ	КИМЯ	МИ
	I	67,2 $\pm$ 2,6	30,6 $\pm$ 2,4	45,2 $\pm$ 2,2	27,4 $\pm$ 1,4
3	II	60,1 $\pm$ 0,9*	28,5 $\pm$ 2,6	47,1 $\pm$ 4,2	30,8 $\pm$ 2,3
	III	52,9 $\pm$ 1,9**	21,6 $\pm$ 1,8*	36,7 $\pm$ 5,2	21,1 $\pm$ 1,5**
	IV	55,3 $\pm$ 1,6**	25,1 $\pm$ 1,4	45,2 $\pm$ 1,5	27,9 $\pm$ 1,0
6	II	59,1 $\pm$ 1,4**	29,5 $\pm$ 1,7	49,7 $\pm$ 2,0	31,5 $\pm$ 1,5*
	III	53,9 $\pm$ 1,0**	19,5 $\pm$ 1,2**	36,1 $\pm$ 1,7**	25,9 $\pm$ 4,1
	IV	55,5 $\pm$ 1,2**	22,9 $\pm$ 1,6**	41,1 $\pm$ 2,3	26,5 $\pm$ 1,9
12	II	58,4 $\pm$ 1,1**	26,8 $\pm$ 1,0	46,1 $\pm$ 1,7	27,4 $\pm$ 1,5
	III	51,3 $\pm$ 1,6**	18,2 $\pm$ 1,9**	35,1 $\pm$ 2,8**	22,7 $\pm$ 3,0
	IV	53,3 $\pm$ 0,8**	21,9 $\pm$ 0,4**	41,3 $\pm$ 0,4	31,7 $\pm$ 1,8*

П р и м е ч а н и е: достоверность различий по сравнению с контролем:

\* - существенная ( $P < 0,05$ ), \*\* - весьма существенная ( $P < 0,01$ )

## ЛИТЕРАТУРА

- Т и м а ш к е в и ч Т.Б. Пути и механизмы регенерации пищеварительного тракта у позвоночных. М., "Наука", 1978, 184 с.-  
Л а г у ч е в С.С. Гормоны и митотический цикл клетки. М., "Медицина", 1975, 176 с. - L ö h r s U., A r n h o l d t H. Beitr. Path., 1976, 159, 4, p. 325-342.

### О ВЛИЯНИИ ДВУСТОРОННЕЙ ЭНУКЛЕАЦИИ НАДПОЧЕЧНИКОВ НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНОЧНОЙ ПАРЕНХИМЫ У БЕЛЫХ КРЫС

Ю.Э. Аренд, Т.Ю. Торпатс

Кафедра анатомии и гистологии  
Тартуского государственного университета

Общеизвестно, что гормоны коры надпочечников являются важными регуляторами обменных процессов, в том числе и в печени. В связи с началом комплексного изучения тартускими морфолгами репаративной регенерации коры надпочечников и соединительной ткани в ране печени одних и тех же животных возник вопрос о том, какое влияние оказывают на печеночную паренхиму нанесение раны печени, двусторонняя энуклеация надпочечников и комбинированное одновременное повреждение печени и надпочечников.

Опыты проведены на 205 молодых половозрелых белых крысах-самцах. В первой серии опытов на 134 белых крысах определяли содержание гликогена в парафиновых срезах, окрашенных ШИК-реакцией после фиксации в жидкости максимова. Содержание гликогена оценивали визуально по субъективной шкале. Срок опытов в первой серии составлял 1, 3, 6, 12 и 30 суток. Во второй серии на 71 белой крысе в опытах продолжительностью 3, 6 и 12 суток подсчитывали митозы гепатоцитов и изучали синтез ДНК при помощи  $^3\text{H}$ -тимидина. Общее количество подсчитанных у каждого животного клеток равнялось 6000. Митотиче-



ский коэффициент (МК) и индекс меченых ядер (ИМЯ) вычислялись в промилле. Все цифровые данные подвергались статистической обработке. В обе серии входили интактные белые крысы, животные только с нанесением раны печени, эксперименты с двусторонней энуклеацией по Эвансу и опыты с комбинированными повреждениями печени и надпочечников. Все животные умерщвлялись в одно и то же время суток (от II до 13 час.).

Результаты опытов показывают, что нанесение только раны печени не обуславливает существенных сдвигов в количестве и локализации гликогена в печеночной паренхиме по сравнению с интактными белыми крысами.

Билатеральная энуклеация надпочечников вызывает в 1-дневных опытах снижение количества гликогена в печени ( $p < 0,05$ ). В 3-дневных экспериментах также наблюдается уменьшение гликогена, но в данном случае разница недостоверная.

Двусторонняя энуклеация в сочетании с нанесением раны печени вызывает и в ранние сроки опытов снижение содержания гликогена. В 1-суточных опытах у всех 5 крыс гликогена весьма мало (0 - +;  $p < 0,05$ ), в 3-дневных опытах у 6 крыс из 10 гликоген практически отсутствовал ( $p < 0,01$ ).

В 6-дневных опытах с двусторонней энуклеацией и в группе с комбинированным повреждением наблюдалась некоторая тенденция к убыванию гликогена в печени, но статистической реальности не имелось. В более продолжительных опытах (12 и 30 суток) никакой разницы в содержании гликогена между интактными животными и крысами экспериментальных групп не наблюдалось.

Следовательно, двусторонняя энуклеация надпочечников, или она же в комбинации с раной печени обуславливают снижение содержание гликогена в печени только спустя 1 и 3 дня после операции. Операция энуклеации весьма травматична и вместе с тем вызывает резкий дефицит кортикостероидов. По мере регенерации адренокортикальной ткани нормализуется и обмен гликогена в печени. По материалам А.Ю. Труупыльда (1969) и Т.Н. Труупыльд (1978), к 14-у дню после энуклеации 45% адренокортикальной ткани восстанавливается, а регенерация коры органа практически заканчивается к 20-у послеоперационному дню. Экс-

перименты проведены также на белых крысах.

Делящихся гепатоцитов у интактных белых крыс не выявлено, но у всех животных обнаруживаются меченые  $^3\text{H}$ -тимидином ядра печеночных клеток (среднее ИМЯ группы  $1,61 \pm 0,24$   $^{\circ}/_{\text{оо}}$ ). Нанесение раны печени обуславливает у части животных в 3-, 6- и 12-суточных опытах появление митозов гепатоцитов, но между цифровыми показателями МК и ИМЯ существенных различий нет. Двусторонняя энуклеация надпочечников и энуклеация в комбинации с раной печени обуславливают в 3-и 6-суточных опытах некоторое повышение МК гепатоцитов (МК от  $0,7 \pm 0,05$  до  $1,83 \pm 0,77$   $^{\circ}/_{\text{оо}}$ ;  $p < 0,05$  -  $p < 0,001$ ), в 12-дневных экспериментах разница нереальная. ИМЯ находится в 3- и 6-дневных экспериментах на уровне интактных животных или же несколько повышен, статистически достоверная разница наблюдается только в 3-дневной группе с комбинированными повреждениями надпочечников и печени (ИМЯ  $3,31 \pm 0,20$   $^{\circ}/_{\text{оо}}$ ;  $p < 0,001$ ). В 12-дневных экспериментах цифровые данные близки к таковым у интактных белых крыс. Следует подчеркнуть, что индивидуальные колебания индекса меченых ядер гепатоцитов весьма существенные.

Таким образом, двусторонняя энуклеация надпочечников вызывает сдвиги в содержании гликогена в печени и некоторое повышение числа делящихся гепатоцитов в опытах продолжительностью до 6 дней. Такие же явления наблюдаются в группе с комбинированными повреждениями (энуклеация надпочечников + рана печени). Нанесение только раны печени не оказывает существенного влияния на состояние печеночной паренхимы.

#### ЛИТЕРАТУРА

Т р у у п ы л ь д А.Ю. Автореф. дисс. докт. наук. Тарту-1969. - Т р у у п ы л ь д Т.Н. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Тарту, 1978.

# СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ БИОХИМИЧЕСКОГО И ГИСТОХИМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЛИКОГЕНА В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ

В.В. Кадакас

Лаборатория механизмов канцерогенеза Института  
экспериментальной и клинической медицины МЗ ЭССР,  
Таллин

При гистохимическом изучении распределения гликогена в печени обычно по тем же препаратам судят и об общем содержании этого вещества в печеночной ткани. При этом иногда переоценивают возможности метода и выделяют необоснованно большое число вариантов якобы с различным содержанием гликогена.

Настоящее сообщение посвящено сравнению между собой результатов определения содержания гликогена в печени, полученных гистохимическим и биохимическим методами у одних и тех же особей. В различное время года и суток изучалась печень 75 мышей-самцов линии  $C_3H$ , до этого не подвергавшихся никакому экспериментальному воздействию. Мышей умерщвляли декапитацией, содержание гликогена определяли в левой латеральной доле печени биохимически по методу Кэмп (М.И. Прохорова, З.Н. Тупикова, 1965). Лежащий рядом кусочек фиксировали по Россманну и заливали в парафин. Гликоген выявляли Шифф-йодной кислотой по Лочкиссу (Пирс, 1962).

Индивидуальные значения содержания гликогена в печени у 30 животных со средним весом  $21,9 \pm 0,4$  г, забитых через каждые 4 часа в течение суток в начале мая 1977 г., колебались от 1,4 до 10,4 процента от сырого веса ткани. В гистохимических препаратах индивидуальные различия также четкие. Следует отметить, что большая вариативность рассматриваемого признака была вызвана отчетливо выраженным суточным ритмом (показатель дисперсионного анализа  $F = 14,01$ ;  $p < 0,01$ ). Тем не менее обоснованным оказалось выделение только трех классов интенсивности окрашиваемости препаратов (см. табл.). При большей раздробленности шкалы средние значения содержания гликогена соседних классов не отличались статистически достоверно друг от друга и границы классов сильно перекрывались.



Т а б л и ц а  
Содержание гликогена в печени мышей, определенное  
биохимически и визуально по интенсивности реакции  
ШИК

Группа мышей	Кол-во мышей	Содержание гликогена		
		оценка по гистохими- ческим пре- паратам	биохимическое определение, процент от сырого веса ткани	
			M + m	размах вари- ации
I	8	Мало	1,8±0,13	1,4-2,4
	4	Умеренное кол-во	3,8±0,35	3,0-4,6
	18	Много	7,6±0,45	4,1-10,4
II	0	Мало	-	-
	9	Умеренное кол-во	2,9±0,42	1,2-5,1
	6	Много	5,5±0,32	4,2-6,5
III	2	Мало	2,3±0,20	2,1-2,5
	3	Умеренное кол-во	3,6±0,22	3,3-4,0
	25	Много	4,9±0,15	3,8-6,1

П р и м е ч а н и е: Различия между отдельными классами в пределах одной группы статистически достоверны.

Индивидуальные значения содержания гликогена в печени 15 мышей той же поставки, забитых, однако, в начале августа при среднем весе 28,1±0,4 г, колебались в несколько более узких пределах (табл.). То же самое относится и к интенсивности гистохимической реакции. Суточный ритм, впрочем, был выражен также слабее ( $F = 4,13$ ;  $P < 0,05$ ). У 30 животных другой поставки, забитых в конце октября при среднем весе 29,0±0,4 г, индивидуальные значения содержания гликогена в печени коле-

бались в еще более узких пределах (табл.), чего, однако, нельзя сказать об интенсивности реакции ШИК. Суточный ритм выражен очень слабо. У мышей двух последних групп, как и в первом случае, обоснованным оказалось выделение только трех классов интенсивности гистохимической реакции.

При сравнении данных, полученных от животных отдельных групп, обращает на себя внимание некоторое несоответствие результатов гистохимического и биохимического определения содержания гликогена в печени, т.е. у мышей с одинаковой интенсивностью реакции ШИК в отдельных группах процентное содержание гликогена в печени может быть разное. Данное обстоятельство несколько затрудняет сравнение результатов отдельных работ, в которых о содержании гликогена в печени судили по гистохимическим препаратам.

Таким образом, строгого соответствия результатов гистохимического и биохимического определения количества гликогена в печени не обнаружено. Поэтому при визуальной оценке интенсивности гистохимической реакции на гликоген следует, как правило, ограничиваться использованием трехбалльной шкалы (мало гликогена, умеренное количество, много).

## ЛИТЕРАТУРА

П и р с Э. Гистохимия. М., ИЛ, 1962. - П р о х о р о в а М.И., Т у п и к о в а З.Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. М., изд-во МГУ, 1965.

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КОНЦЕПЦИЯ О ГРАНУЛОЦИТЕ КАК СЕКРЕТОРНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

В.Е. Пигаревский

Отдел патологической анатомии и гистологии Института  
экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

Представление о секреторной функции нейтрофильных гранулоцитов возникло на основе данных об их способности к экзо-

цитозу и высвобождению содержимого лизосомоподобных гранул во внеклеточную среду (Henson, 1971). Это явление, названное "экстренной секрецией" или "несостоявшимся фагоцитозом", отражает лишь конечную стадию секреторного процесса, свойственного гранулоцитам. Начало секреторной функции нейтрофильных гранулоцитов (синтез секреторных продуктов и образование лизосомоподобных секреторных гранул) совпадает с началом промиелоцитарной стадии. Первичный (промиелоцитарный) и вторичный (миелоцитарный) гранулогенезы составляют главный морфофункциональный признак дифференцировки клеток миелоидного ряда.

Критического рассмотрения требуют данные В.В. Роговина и соавт. (1977) о промиелоцитарных (азурофильных) лизосомоподобных гранулах как пероксидазосомах. По нашим наблюдениям, пероксидаза является не обязательным компонентом промиелоцитарных гранул. Применяв двойную цитохимическую реакцию (миелопероксидаза + катионные белки), мы убедились, что в костном мозге новорожденных кроликов 90-95% всей популяции гранул нейтрофильных промиелоцитов дает отрицательную реакцию на пероксидазу и содержит катионные белки. Пироксидаза появляется в нейтрофильных промиелоцитах в первые недели постнатального периода и становится специфическим маркером гранул этих клеток у взрослых животных. О методах выявления приобретенных и наследственных дефектов содержания бактерицидных белков в гранулах нейтрофилов см. в статье сборника "Лизосомально-катионный тест и результаты его применения в экспериментальной и клинической практике".

Зрелому нейтрофилу свойственны три способа высвобождения лизосомоподобного секрета во внеклеточную среду: мерокриновый (эккриновый), апокриновый и голокриновый. Синоним мерокринового типа секреции - процесс экзоцитоза. Часто не учитывается, что фагоцитоз начинается с экзоцитоза - выброса во внеклеточную среду бактерицидных белков и кислых гидролаз, участвующих в резорбции иммунных комплексов и обезвреживании внеклеточно расположенных бактерий. По данным электронной микроскопии, гранулы сливаются с мембраной еще незакрывшейся фагоцитарной вакуоли и образуют временно функционирующую эк-



зоцитарную систему. Активность такой системы зависит от величины и свойств поглощаемой частицы. Мы рассмотрели ультраструктурные механизмы фагоцитоза многоклеточных нитей *V. mageritum* гранулоцитами кролика. Захваченные гранулоцитами микробные нити оказывались заключенными в фагоцитарные каналы, открывающиеся на противоположных сторонах клетки. Образование сквозного фагоцитарного канала обеспечивало подавление активности фагоцитированного возбудителя и высвобождение бактерицидных факторов и ферментов во внеклеточную среду. Значение и распространенность отмеченного явления при разных формах патологии не выяснены.

Экзоцитозу может предшествовать декатионизация гранул с экстренным выбросом бактерицидных катионных белков во внеклеточную среду. Целостность мембраны гранул сохраняется, однако гранулы перестают давать положительную реакцию на катионные белки. Отмеченному явлению дано название проэкзоцитоза или ложной дегрануляции (В.Е. Пигаревский, 1978). Описаны апокриновый тип секреции у нейтрофилов и выделение биологически активных веществ за счет выталкивания из клетки морфологически неизмененных лизосомоподобных гранул наружу. По нашим данным, выделение гранул и фрагментов цитоплазмы можно наблюдать у некоторых псевдоэозинофильных гранулоцитов при асептическом воспалении у кроликов. Различимы два типа гибели нейтрофильных гранулоцитов: 1) с дегрануляцией также лизисом цитоплазмы, 2) без дегрануляции и с высвобождением целостных гранул во внеклеточную среду. Распад гранулоцитов с высвобождением целостных гранул близок голокриновому типу секреции (сальные железы). Освободившиеся из разрушенных гранулоцитов лизосомоподобные гранулы содержат бактерицидные факторы и ферменты и участвуют в формировании нефагоцитарного типа резистентности в очагах воспаления при бактериальных процессах.

Таким образом, представление о гранулоците как секреторной железе не приложимо к функции одиночной клетки. Секреторный процесс разорван во времени и приурочен к разным периодам дифференцировки клеток миелоидной ткани. В митотический период (промиелоцит и миелоцит) происходит синтез первичных

секреторных продуктов и формирование секреторных гранул. В постмитотический период (метамиелоцит, палочкоядерный и сегментоядерный нейтрофил) клетки способны только к выделению зрелого секрета в фагоцитарные вакуоли и во внеклеточную среду. Предлагаемая морфологическая концепция о гранулоците как секреторной железе основана на морфодинамическом (гистогенетическом) принципе оценки разных стадий секреторного процесса, начиная от ранних и кончая поздними, завершающимися гибелью клетки и высвобождением во внеклеточную среду лизосомоподобных секреторных гранул и их содержимого.

#### ЛИТЕРАТУРА

Пигаревский В.Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. М., 1978. - Роговин В.В., Парузян Л.А., Муравьев Р.А. Пероксидазосомы. М., 1977. - Невон Р.М. J. exp. Med., 1971, 134, p. 114-135.

#### РОЛЬ НЕЙРОГЛИИ В РАЗВИТИИ ПЕРИАКСОНАЛЬНОГО ПРОЦЕССА ВИРУСНОЙ ПРИРОДЫ

А.М. Добыкин, Л.П. Маиорова, Г.В. Коновалов

Лаборатория нормальной и патологической морфологии  
нервной системы и отдел вирусологии Института  
экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

Демиелинизирующий (периаксональный) процесс, т.е. разрушение миелиновых оболочек без повреждения аксонов, является характерным признаком ряда заболеваний нервной системы человека, которые, как полагают в последнее время, прямо либо косвенно связаны с вирусной инфекцией. Демиелинизацию часто сопровождают изменения нейроглии, исчезновение (иногда тотальное) в области повреждений миелинообразующих клеток (олигодендроцитов в ЦНС и лимфоцитов в PNS) и приводящая к скле-

розу гипертрофия фиброзных астроцитов (см. обзоры Raine, 1977; Meulen a. Wege, 1978 и др.). Патогенетические механизмы, лежащие в основе этих явлений, остаются неясными, поскольку трудно установить их морфодинамику. Поэтому использование адекватных экспериментальных моделей представляет значительный интерес.

В работе представлены результаты изучения энцефаломиелита, вызываемого нейротропным НМ штаммом вирусов мышинного гепатита (ЭМГ). Материал, полученный от 52 мышей линий СЗН и С57/В1 с острым и подострым (до 2 месяцев) течением инфекционного процесса, был исследован на светооптическом (с использованием селективных окрасок на миелин) и электронномикроскопическом уровнях.

Как при остром, так и подостром ЭМГ наблюдается избирательное поражение белого вещества головного (ствол и мозжечок) и спинного мозга, проявляющееся в возникновении диффузно расположенных очагов утраты миелина, не связанных по локализации с сосудами. Воспалительная инфильтрация в основном представлена мононуклеарами. Последние располагаются в пиальных оболочках, а иногда, в виде небольших скоплений, в паренхиме ЦНС, сопутствуя демиелинизации.

Субмикроскопическое исследование острого ЭМГ показало, что наиболее отличительными признаками повреждений являются: дегенерация большинства олигодендроцитов, в которых нередко удается обнаружить вирусные частицы; деградация миелина в пределах интернодального сегмента и фагоцитоз миелиновых ламелл проникающими отростками мононуклеаров и астроцитов, появление групп структурно сохраненных аксонов, сегментарно лишенных миелиновых оболочек. Следует отметить, однако, что иногда наблюдается отличный от вышеуказанного механизм демиелинизации. Это - локальное, по типу везикулярной дегенерации, повреждение миелина со стороны наружного мезаксона рядом с отростками мононуклеаров, содержащими большое количество лизосом, а также вблизи отростков фиброзных астроцитов.

При подостром ЭМГ, в отличие от острого процесса, имеет место несоответствие между инфицированностью олигодендроци-



тов и выраженностью демиелинизации. Как правило, вирусные частицы обнаруживаются в астроцитах и не продуцируют в них отчетливых деструктивных изменений. Чаще наблюдается локальная дегенерация миелиновых ламелл, которые затем фагоцитируются мононуклеарами и астроцитами. По-видимому, развивающийся астроцитарный глиоз нередко препятствует нормальной ремиелинизации.

Полученные данные указывают на то, что при остром ЭМГ в первую очередь поражаются миелинообразующие клетки, а наблюдаемый периаksonальный процесс является, вероятно, следствием этого поражения. Обнаружение нуклеокапсидов коронавирусов в дегенерирующих олигодендроцитах может свидетельствовать в пользу прямого действия на них вирусов. Последнее подтверждается отсутствием иммунопатологического компонента при этом заболевании (Weiner, 1973) и характером репликации вирусов мышинного гепатита, не затрагивающей плазмолемму клеток. Вместе с тем локальная везикулярная дегенерация миелиновых оболочек в местах их тесного контакта с мононуклеарами и астроцитами дает основание предположить, что разрушение миелина происходит побочно, за счет факторов, связанных с развитием воспаления (выход лизосомальных энзимов из фагоцитирующих элементов и т.п.). Этот процесс более выражен при подостром ЭМГ, и, возможно, что в данном случае вирусы служат лишь своеобразным "депо" антигена, вызывающим и поддерживающим воспаление. Результаты подчеркивают важную роль астроцитов в образовании повреждений; проникновение их отростков к аксонам, препятствующая нормальной ремиелинизации конкуренция с олигодендроцитами и фагоцитарная способность астроглии. С чем связана подобная активность, пока не ясно.

Таким образом, можно полагать, что ЭМГ служит адекватной моделью для изучения периаksonальных изменений и дает возможность последовательно наблюдать развитие деструктивных и репаративных процессов, связанных с патологией миелина.

## ЛИТЕРАТУРА

- We i n e r L.P., Arch. Neurol., 1973, 25, 5, 298-303. -  
R a i n e C.S. Pathobiol. Ann., 1977, 7, 347-384. -  
M e u l e n V., W e g e H., In: Myelination and demyelination, ed. J. Palo, Plenum Press N.Y.-Lond., 1978, 383-394.

### О ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯХ У КУР И МОРСКИХ СВИНОК, ЗАРАЖЕННЫХ АТИПИЧНЫМИ МИКОБАКТЕРИЯМИ

О.В. Мартма, Э.Э. Лепп

Эстонский НИИ животноводства и ветеринарии,  
кафедра патологической анатомии, паразитологии и  
зоогигиены Эстонской сельскохозяйственной академии,  
Тарту

Атипичные микобактерии широко распространены в природе и отличаются от микобактерий туберкулеза по ряду признаков. Значительное распространение атипичных микобактерий и обусловленная ими сенсibilизация крупного рогатого скота и свиней к туберкулину определяют необходимость выяснения их эпизоотической роли и оценки патогенных свойств.

Многие авторы считают, что атипичные микобактерии непатогенны для морских свинок (В.И.Косенко, Л.А.Павлович, 1978). Однако некоторые из них обладают в разной степени выраженной патогенностью для белых мышей, кроликов и кур (Г.А. Красников и сотр., 1977 и др.).

Цель настоящего исследования - проверить патогенность некоторых культур атипичных микобактерий, относящихся к различным группам по Runyon (1959), а также изучить особенность динамики изменений во внутренних органах подопытных животных при введении им некоторых культур атипичных микобактерий. В опыте использовано II морских свинок и I6 кур.

Для заражения подопытных животных и птиц были взяты следующие штаммы: *M. scrofulaceum*, *M. avium* и *M. intracellulare*.

18 культур атипичных микобактерий, принадлежащих к III группе по Runyon, были не типизированы.

Кур заражали внутривенно в дозах 0,01-1,0 мг/мл. Все подопытные куры умерщвлены через 31 день - 6,5 месяцев после заражения. Теми же культурами атипичных микобактерий заражали интратестикулярно морских свинок в дозе 0,2 мг/0,2 мл. Морских свинок убивали на 15 и 30-й день и через 3,5 месяца после заражения.

После патологоанатомического исследования забирались кусочки материала из легких, печени, почек, селезенки, а у морских свинок и кусочки яичка для гистологического исследования. Отобранный материал фиксировали в растворе формалина. Срезы из парафиновых блоков окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону.

12 кур были заражены культурами нефотокромогенных и 4 - культурой скотокромогенных атипичных микобактерий.

При вскрытии куры, зараженной штаммом *M. avium* внутривенно в дозе 1,0 мг/мл и убитой через 5 месяцев после заражения, наблюдали истощение, в печени - многочисленные серовато-белые узелки величиной с просыное зерно. Селезенка увеличена и гипермирована.

При гистологическом исследовании в срезах из ~~печени~~ и селезенки выявлены многочисленные узелки, весьма разной величины. Узелки содержали остатки распадающихся клеток и были окружены поясом различной ширины из эпителиоидных клеток, гистиоцитов и фибробластов. Центральная часть многих узелков некротизирована. Местами наблюдалось значительное количество гигантских клеток. Единичные эпителиоидные узелки находились и в срезах легких.

У кур, зараженных остальными культурами атипичных микобактерий и убитых через 6,5 месяцев после заражения, макро- и микрокартина была малохарактерной. В легких наблюдали эпителиоидные узелки. В печени и селезенке обнаружены бугорки из эпителиоидных и скопления лимфоидных клеток. Одни скопления были похожи на лимфатические узелки округлой формы, отграниченные от печеночных клеток рядом фибробластов, другие не имели резких границ. Располагались лимфоидные скопления



чаще около сосудов, но наблюдались они и в печеночных долях.

Сравнивая изменения у птиц, вызванные штаммом *M. avium* и культурами атипичных микобактерий II и III группы по Runyon, использованными в опыте, можно отметить некоторые различия. *M. avium* у кур обуславливала туберкулезные изменения. Остальные культуры атипичных микобактерий вызывали образование только эпителиоидных бугорков в печени и селезенке кур. Следовательно, атипичные микобактерии II и III групп по Runyon отличались по патогенности от штамма *M. avium*.

Макроскопически в печени и в яичках морских свинок в большинстве случаев обнаружены многочисленные серовато-белые очаги. Селезенка увеличена и гиперемична. Паховые лимфатические узлы гиперемичны.

При гистологическом исследовании в печени и селезенке наблюдались очаги из эпителиоидных, ретикулярных и лимфоидных клеток, а местами - казеоз и разрушение ткани. Значительная часть клеток синусов разлагалась и отторгалась. У морских свинок, забитых через 1-3,5 месяца после заражения, в селезенке увеличилось количество фолликулов. Вокруг фолликулов начинали скопляться различного типа клеточные элементы. В легких все штаммы вызывали значительное утолщение межальвеолярных перегородок и разrostы преимущественно ретикулярных клеток. В яичке формировались мелкие бугорки, состоящие из эпителиоидных и гигантских клеток типа Лангганса.

Таким образом, атипичные микобактерии вызывали у морских свинок морфологические изменения, отличающиеся выраженным полиморфизмом. По характеру, размеру и длительности обнаружения возникших изменений можно определить патогенность культур атипичных микобактерий. Более патогенные штаммы вызывали у морских свинок микроочаги некроза в печени и яичках и скопления эпителиоидных клеток в легких.

#### ЛИТЕРАТУРА

Косенко В.И., Павлович Л.А. Ветеринария, 1978, 7, с. 51-53. - Красников Г.А., Харченко А.И. Наумова Н.А. Ветеринария, 1977, 6, с. 43-48. - Runyon E., Med. Clin. North. Am., 1959, 43, p. 273-290.

# ЛИЗОСОМАЛЬНО-КАТИОННЫЙ ТЕСТ И РЕЗУЛЬТАТЫ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

В.Е. Пигаревский, Ю.А. Мазинг, И.Я. Фокина  
Отдел патологической анатомии и гистологии  
Института экспериментальной медицины АМН СССР и  
кафедра педиатрии № 3 Государственного института  
усовершенствования врачей им. С.М. Кирова, Ленинград

Лизосомально-катионный тест, предложенный нами ранее для диагностической практики, основан на цитохимическом выявлении лизосомальных катионных белков, составлении лизосомограмм и лизосомально-катионной формулы гранулоцитов (В.Е. Пигаревский, 1979). Тест пригоден для определения показателей уровня неспецифической резистентности организма, количественной и качественной оценки процесса фагоцитоза, улучшения цитологической диагностики лейкозов (В.Е. Пигаревский, 1979; Ю.А. Мазинг, 1979). Растворы красителей, применяемые для лизосомально-катионного теста, отличаются большой стойкостью и используются многократно. Стандартизации требуют условия приготовления и фиксации препаратов, определение значимости технических упущений и частоты артефактов, возникающих при неправильно выбранном фиксаторе, усовершенствование методов количественной оценки результатов.

Стандартизация условий приготовления и фиксации препаратов. Растворы формалина и этиловый спирт (100°, 96° и 70°) вызывают искусственный выход катионных белков из гранул и аномальное диффузное окрашивание цитоплазмы. Метанол и сульфосалициловая кислота позволяют выявить 50% катионных белков, содержащихся в гранулах нейтрофилов. Наиболее приемлема для фиксации смесь формалина с этиловым спиртом (1 мл формалина + 19 мл абсолютного этилового спирта). Однако и этот фиксатор создает неспецифическую фоновую окраску эритроцитов. 100%-ное выявление катионных белков при отсутствии искусственного фона достигается при окраске нефиксированных и высушенных на воздухе мазков и препаратов-отпечатков. Их мож-

но окрашивать сразу и спустя 48 часов (не позднее!) после их приготовления. В течение более длительного срока (до 14 дней) пригодны для окраски мазки и препараты-отпечатки, зафиксированные в спиртовом формалине.

Мазки крови и смывы из бронхов окрашивали по предложенному ранее способу (В.Е. Пигаревский, 1979). Окрашенные препараты сохраняли исходную интенсивность реакции на катионные белки в течение 8 месяцев (срок наблюдения).

Определение среднего цитохимического коэффициента содержания катионных белков в гранулоцитах проводилось по модифицированной нами формуле Астальди и Верга:

$$\frac{3a + 2b + 1,5v + 1g + 0,5d + 0e}{100},$$

где буквы (a-e) обозначают количество однотипных клеток с определенной степенью окрашиваемости цитоплазмы прочным зеленым, а цифры (3-0) - степень интенсивности окрашивания. Отсутствие окраски цитоплазмы и лизосомных гранул принимается за нулевую степень (0). Наличие в цитоплазме единичных окрашенных гранул или ее слабое диффузное окрашивание указывает на интенсивность реакции первой степени (0,5). При второй степени (1) половина цитоплазмы заполнена светло окрашенными гранулами, остальные участки не окрашены или содержат бледно-зеленые гранулы. При третьей степени (1,5) цитоплазма равномерно заполнена гранулами, окрашивающимися в светло-зеленый цвет, среди них встречаются отдельные темно-зеленые гранулы. При четвертой степени (2) цитоплазма содержит около 1/3 темно-зеленых гранул, остальные участки заполнены гранулами светло-зеленого цвета. При пятой степени (3) более 2/3 гранул окрашены в темно-зеленый цвет.

Коэффициент бактерицидной активности катионных белков гранулоцитов определяется по предложенной ранее формуле (В.Е. Пигаревский, 1979).

#### Примеры применения лизосомального-катионного теста.

Использование теста в экспериментальной практике описано нами ранее (Ю.А. Мазинг, 1979).

Обследовались дети в возрасте 4-12 лет с хроническими



бронхолегочными заболеваниями, мазки крови и препараты-отпечатки смывов из бронхов изучали описанными выше способами. В зависимости от величины коэффициента бактерицидной активности (КБА) больные разбиты на три группы: I (38 больных) - меньше 30%, II (26 больных) - от 30 до 70% и III (9 больных) - больше 70%. В первой группе содержание катионных белков гранулоцитов периферической крови было намного ниже нормы. Средний цитохимический коэффициент ( $K_{кб}$ ) равен  $0,72 \pm 0,04$  (в норме у детей данного возраста  $1,74 \pm 0,02$ ). Во второй группе  $K_{кб}$  оказался равным  $1,21 \pm 0,06$ , что достоверно выше ( $P < 0,001$ ), чем в первой группе. У третьей группы больных содержание катионных белков было больше ( $P < 0,001$ ), чем во второй группе, но ниже нормы ( $P < 0,01$ ). Клиническое состояние больных третьей группы характеризовалось стадией ремиссии, во второй группе преобладали больные в стадии клинического улучшения, а в первой группе - в стадии обострения.

Исследовав уровень катионных белков в гранулоцитах периферической крови у 35 детей до 3-летнего возраста больных ОРВИ с явлениями бронхита, мы установили, что их содержание в начальный период незначительно снижено. У практически здоровых детей  $K_{кб}$  составляет  $1,93 \pm 0,02$ , в то время как при поступлении в стационар (1-5-й день болезни) у большинства детей этот показатель равнялся  $1,79 \pm 0,03$  ( $P < 0,001$ ). Наблюдения детей в динамике патологического процесса позволили установить, что уровень катионных белков изменяется в зависимости от периода болезни. Так, в острый период (6-14-й день) количество их падает до  $1,37 \pm 0,03$  ( $P < 0,001$ ), а в период репарации постепенно восстанавливается и к моменту выписки достигает исходного уровня  $1,81 \pm 0,04$  ( $P < 0,05$ ).

Обследованы также 17 детей с тяжелыми поражениями бронхолегочной системы, поступивших в отделение реанимации детской больницы № 21 г. Ленинграда. При тяжелом клиническом состоянии у больных наблюдается значительная декатионизация гранулоцитов периферической крови. В день поступления  $K_{кб}$  был равен  $0,54 \pm 0,07$ . По мере улучшения состояния ребенка наблюдалось восстановление уровня катионных белков, причем улучшение состояния детей с низким  $K_{кб}$  наблюдалось в более

поздние сроки.

Таким образом, приведенные примеры показывают, что лизосомально-катионный тест отражает клиническое состояние больного и может быть использован с прогностической целью.

## ЛИТЕРАТУРА

М а з и н г Ю.А. В сб.: Цитохимические и биохимические исследования в эксперименте и клинике. Нальчик, 1979, 19-20.-  
П и г а р е в с к и й В.Е. Арх. патол., 1979, 5, 74-80.

### ЛОКАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ РИТМИКИ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В ЭПИТЕЛИИ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ТИПА

Х.М. Авиньо Маррадес, Г.С. Катинас  
Кафедра гистологии с эмбриологией и цитологией  
I Ленинградского медицинского института  
им. акад. И.П. Павлова

Обстоятельная изученность митотической активности в эпителиях эпидермального типа делает эту ткань удобным объектом для установления локальных отличий, связанных с органическими особенностями. Литература о ритмике митотической активности в эпителиях эпидермального типа настолько обширна, что здесь уместно упомянуть лишь обзоры И.А. Алова (1964), С.Г. Мамонтова и В.В. Синельщикова (1977), Ю.А. Романова (1977) и Ю.А. Романова и соавт. (1979).

Современный уровень изучения требует не только констатации существования ритмики, но и определения ее параметров, а при сравнении локальных особенностей ритмики - учета совпадения уровня колебаний, фаз и амплитуд ритма. Удобным объектом для изучения служит ушная раковина, так как ее внутренняя и наружная поверхности отличаются степенью развития волос и сальных желез, а также подверженностью влияниям внешней среды.

Наблюдения проведены на половозрелых самцах мышей C<sub>57</sub>Bl во время весеннего равноденствия в Ленинграде при естественном световом режиме; кормление осуществлялось вечером *ad libitum*, пища убиралась утром. Питьевая вода была доступна круглосуточно. До забоя адаптация к среде длилась около 3-х недель. Материал забирали в течение 3 суток с интервалами 2 ч. 15 мин. Митозы подсчитывали на срезах толщиной 5-6 мкм, окрашенных гематоксилином и эозином. Выявление колебаний осуществлялось по данным сглаживания рядов наблюдений методом скользящих средних, в результате чего отфильтровывались случайные и высокочастотные колебания с различным периодом, что позволило произвести спектральный анализ компонентов ритмики. Сравнение величины подъемов и спадов проводилось непараметрически  $\chi^2$ -критерием Вилконсона-Манна-Уитни.

В последовательном ряду наблюдений выявлены три подъема и три спада, а на плексосограммах - также ультрадианные компоненты (колебания с периодом менее 20 ч).

Ритмика митотической активности в эпидермисе ушной раковины на наружной и внутренней поверхностях отличается по всем учтенным параметрам. Уровень, вокруг которого совершаются колебания, на наружной поверхности составляет 3,5, а на внутренней - 4,6%. Относительный полуразмах колебаний на внутренней поверхности также выше (0,07 против 0,06). Максимум циркадного компонента ритмики на наружной поверхности наблюдается около II, а на внутренней - около I5 ч, а минимум соответственно около 23 и 2 ч, т.е. отмечается сдвиг фаз около 4 ч. На наружной поверхности циркадный компонент сочетается с ультрадианными колебаниями периодом около 8 ч, а на внутренней - с колебаниями периодом около 12 ч. Мощность процесса на внутренней стороне при учете ультрадианных составляющих больше, чем на наружной в 1,6 раза, но, учитывая соотношение мощностей циркадного и ультрадианного компонентов, доля последних заметнее в ритмике на наружной поверхности.

Локальные особенности ритмики митотической активности эпителия эпидермального типа могут быть учтены при анализе протекания регенераторных процессов после травмы, нанесенной в различное время суток.



## ЛИТЕРАТУРА

А л о в И.А. Очерки физиологии митотического деления клетки. М., "Медицина", 1964. - Романов Ю.А., Рыбаков В.П., Антохин А.И., Мамонтов С.Г., Филиппович С.С., Степанова Л.Л., Барышева В.П., Савченко Т.В., Семенова М.В., Мацак Н.Я., Захаров В.Б. В кн.: Фармакол. регуляция регенераторн. процессов. Йошкар-Ола, 1979, с. 18-20. - Мамонтов С.Г., Синельщикова В.В. Журн.общ.биол., 1977, 38, с. 100-III. - Романов Ю.А. В кн.: Регуляция процессов регенерации и клеточного деления. М., Ин-т морфологии человека, 1977, с. 45-49.

### МИТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭПИТЕЛИЯ ПИЩЕВОДА У УМЕРШИХ ОТ РАЗЛИЧНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Л.А. Якман, Н.И. Лобода, А.Ю. Труупыльд  
Кафедра патологической анатомии и судебной медицины  
Тартуского государственного университета

Целью настоящей работы является выяснение роли различных факторов (пол, возраст, время наступления смерти, основное заболевание и его осложнения) в митотическом режиме эпителия пищевода у умерших от разных болезней. Эпителий пищевода избран в качестве исследуемого объекта на основании следующих соображений: 1) предполагаемый высокий уровень митотической активности клеток, 2) отсутствие значительных посмертных изменений в органе (по сравнению, например, с кишечником) и 3) относительно редкое поражение самого пищевода патологическими процессами.

Проанализирован материал, взятый из средней трети пищевода от случайно выбранных 35 секционных случаев, произведенных в прозектуре Тартуской клинической больницы МЗ ЭССР. Подсчет количества митозов и их отдельных фаз проводили в базальном слое и слое шиповатых клеток эпителиального пласта

пищевода, причем в каждом случае подсчитывалось не менее 1500 клеток.

Установлено, что средний митотический коэффициент (МК) для всех исследованных случаев в целом является довольно высоким, составляя  $29,3 \pm 2,1^{\circ}/\text{оо}$  с колебаниями от 10,9 до  $60,9^{\circ}/\text{оо}$ . В то же время средний индекс фаз митоза (ИФМ, отношение ранних фаз митоза к поздним) -  $0,30 \pm 0,04$  - свидетельствует о том, что во всех случаях поздние фазы митоза преобладают над ранними. Очевидно, это обусловлено тем, что материал фиксировался не сразу после смерти, а спустя несколько часов или даже 1-2 суток.

Выявлено, что половые различия не оказывают влияния на уровень митотической активности эпителия пищевода. Так, средние величины МК у мужчин ( $29,9 \pm 3,9^{\circ}/\text{оо}$ ) и женщин ( $28,8 \pm 2,4^{\circ}/\text{оо}$ ) практически совпадают ( $p > 0,7$ ). Однако сравнение показателей митотической активности в отдельных возрастных группах выявило, что с возрастом МК постепенно повышается. Об этом говорят следующие показатели МК для отдельных возрастных групп: от 31 до 40 лет -  $21,3 \pm 6,5^{\circ}/\text{оо}$ , от 41 до 50 лет -  $26,3 \pm 4,5^{\circ}/\text{оо}$ , от 51 до 60 лет -  $24,0 \pm 3,1^{\circ}/\text{оо}$ , от 61 до 70 лет -  $29,5 \pm 5,4^{\circ}/\text{оо}$ , от 71 до 80 лет -  $35,7 \pm 2,3^{\circ}/\text{оо}$  и от 81 до 90 лет -  $47,5 \pm 13,2^{\circ}/\text{оо}$ . Такое якобы парадоксальное повышение митотической активности эпителиальных клеток пищевода может быть связано с замедленным прохождением клетками митотического цикла у людей пожилого возраста. Один из наиболее высоких показателей МК имел место также у мертворожденного -  $51,7^{\circ}/\text{оо}$ . По-видимому, это объясняется вообще высоким уровнем пролиферации клеток на ранних этапах онтогенеза.

Исходя из факта, что у лабораторных животных наблюдаются четкие суточные колебания МК в эпителии пищевода (И.А. Алов, 1959; В.П. Доброхотов, А.Г. Курдюмова, 1962; В.П. Рыбаков, 1972; Л.Д. Лиознер, И.В. Маркелова, 1975), наш материал проанализирован с учетом времени суток наступления смерти. Однако какой-либо зависимости МК от этого фактора выявлено не было. Правда, ИФМ при наступлении смерти в утренние часы достоверно выше ( $0,48 \pm 0,14$ ), чем у умерших в вечерние часы ( $0,14 \pm 0,02$ ,  $p < 0,05$ ). Вероятно, причина этой разницы сос-

тоит в том, что материал от умерших в утренние часы (0.00 - 12.00) фиксировался после смерти быстрее, чем от умерших во второй половине суток (12.00 - 24.00).

При анализе материала с учетом диагностированного у умерших основного заболевания установлено, что средний МК эпителия пищевода при сердечно-сосудистых заболеваниях ( $31,1 \pm 5,1$  ‰) не отличается от среднего показателя МК для всех исследованных случаев ( $29,3 \pm 2,1$  ‰). В то же время МК у умерших от злокачественных опухолей ( $21,9 \pm 3,9$  ‰) и инфекционных болезней ( $23,3 \pm 4,3$  ‰) ниже, а у умерших от патологии головного мозга ( $36,7 \pm 0,8$  ‰) выше, чем средний показатель МК эпителия пищевода. Объяснить эти данные нелегко. Вполне возможно, что часть онкологических больных получала цитостатики и гормональные препараты, что могло отразиться на митотическом режиме тканей. К тому же интересно отметить, что наиболее низкие показатели МК имели место у умершего, страдавшего ревматическим эндокардитом митрального и аортального клапанов ( $11,2$  ‰) и у умершего от хронического алкоголизма с хроническим панкреатитом и циррозом печени ( $15,9$  ‰).

Каких-либо существенных изменений МК эпителия пищевода, связанных с осложнениями основного заболевания и длительностью агонального периода, выявить не удалось.

Необходимо подчеркнуть, что из-за относительно небольшого количества исследованных секционных случаев наши данные носят предварительный характер. Однако отмеченные нами интересные тенденции изменения МК эпителия пищевода при анализе материала с учетом возраста умерших и диагностированного у них основного заболевания показывают целесообразность продолжения исследований в данном направлении на гораздо большем и специально отобранном секционном материале.

#### ЛИТЕРАТУРА

А л о в И.А. Бюл. эксперим. биол. и мед., 1959, 48, II, 107-112. - Д о б р о х о т о в В.Н., К у р д ю м о в а А.Г. Бюл. эксперим. биол. и мед., 1962, 54, 8, 81-84. - Л и о з н е р Л.Д., М а р к е л о в а И.В., Бюл. эксперим. биол. и мед., 1975, 79, 6, 89-92. - Р ы б а к о в В.П. В кн.: Биология репродукции клеток, вып. I. М., 1972, 103-113.



## IV. ВОПРОСЫ БИОЛОГИИ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ

### РИТМИКА КЛЕТОЧНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ В ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНАХ И РАЗЛИЧИЯ В ХОДЕ ОТТОРЖЕНИЯ КОЖНОГО ТРАНСПЛАНТАТА ПРИ ОПЕРАЦИИ В РАЗНОЕ ВРЕМЯ СУТОК

Г.С. Катинас, В.А. Брежнева, В.Л. Быков,  
В.Г. Гололобов, О.Г. Ляшко

Кафедра гистологии с эмбриологией и цитологией  
I Ленинградского медицинского института  
им. акад. И.П. Павлова

Одним из первых на наличие суточной ритмики клеточного размножения в лимфатических узлах и в корковом веществе вилочковой железы обратил внимание Ю.П. Хуссар (1966, 1969). В реакциях отторжения трансплантатов также обнаружена ритмичность, причем не только суточная (Ratte J. M. et al., 1974), но и с более длительными периодами (см. Чиркова Э.Н. и др., 1975). В связи с анализом литературы была поставлена задача изучения реакций лимфоидной ткани в лимфатических узлах и вилочковой железе в сопоставлении с процессами, происходящими в ходе отторжения полнослойного кожного трансплантата.

Наблюдения выполнены на мышцах-самцах  $C_{57}Bl$  в Ленинграде в период весеннего равноденствия.

В лимфатических подмышечных узлах внимание обращали на Т-зависимую паракортикальную зону, учитывали количество иммунобластов и общее количество малых лимфоцитов в единице объема ткани с учетом, что в лимфатических узлах постоянно происходит циркуляция и, тем самым, смена популяции лимфоцитов. Выявили наличие суточной периодики со средним уровнем 45 и полуразмахом  $13,5 \pm 1,8$  усл.ед., временем подъемов в  $0,0 \pm 3,4$  и спадов в  $12,8 \pm 0,4$  ч. Различия величины подъемов и спадов статистически достоверны при  $P < 0,05$ . Уровень, вокруг которого совершаются циркадные колебания в течение 3

дней, постепенно возрастал, что свидетельствует о наличии в составе ритмики инфрадианной составляющей (параметры не определялись, так как для этого необходимы наблюдения в несколько недель подряд). По плексограмме выявили и 12-часовую составляющую ритмики. Таким образом, процесс репопуляции паракортикальной зоны лимфатических узлов малыми лимфоцитами носит циклический характер и обладает сложным спектральным составом. Установили также сложный спектральный состав ритмики количества иммунобластов.

В корковом веществе вилочковой железы обнаружили не только циркадную митотическую активность тимоцитов (чем подтверждены данные Ю.П. Хуссара), но и циркасептанную с периодом 6,5, а также инфрадианную с периодом около 2,5-3 сут.

В полнослойных кожных лоскутах, пересаженных от мышей  $C_{3H}$  мышам  $C_{57}Bl$ , изучали динамику гибели эпидермиса и элементов дермы и процессы регенерации в трансплантате. Учитывали долю клеток базального слоя эпидермиса с признаками пикноза ядер и обладающих пиронинофилией цитоплазмы, количество пиронинофильных фибробластов в дерме, количество малых лимфоцитов и полиморфноядерных лейкоцитов, инфильтрирующих различные слои трансплантата. Установили волнообразный характер этой инфильтрации. Первая волна заканчивается ко 2-3-им суткам. К этому же времени резко падает количество пиронинофильных клеток. С 3-их суток начинается регенерация эпителия за счет еще не погибших камбиальных элементов в глубоких слоях волосяных фолликулов и сальных желез. В ответ возникает новая волна инфильтрации лимфоцитами и полиморфноядерными нейтрофилами, а количество жизнеспособных клеток падает к 7-ым суткам почти до нуля. На 7-10-е сутки возникает новая слабая волна регенерации, которая опять подавляется, чему соответствует и третий подъем количества лимфоцитов и сегментоядерных форм. Таким образом, в ходе реакции отторжения трансплантата и регенерации сохраняющих жизнеспособность его клеток отчетливо проявляется циркасептанная ритмика.

Интенсивность процессов, сопровождающих отторжение трансплантата, связана со временем суток, когда проводилась пересадка. После вмешательства, проводившегося в 16 ч, интенсив-

ность регенераторных реакций была выше, а инфильтрация лимфоцитами оказалась меньше, чем при операциях, проведенных ночью и утром.

## ЛИТЕРАТУРА

Чиркова Э.Н., Серебряков Н.Г., Кузнецова К.К., Герасимова Т.Н. В кн.: Акт. пробл. трансплантологии и искусств. органов. М., 1975, с.121-134. - Хуссар Ю.П. В сб.: Уч. зап. Тартуск. ун-та, 1966, 189, с. 16-24. - Хуссар Ю.П. В сб.: Уч. зап. Тартуск. ун-та, 1969, 249, с. 3-19. - Ratte J.M., Halberg F., Naus E., Najarian J.S. Chronobiologia, 1974, 1, p. 62-73.

### ДИФФЕРЕНЦИРОВКА Т-ЛИМФОЦИТОВ МИНДАЛИНЫ ПЛОДА ЧЕЛОВЕКА И РЕАТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

З.С. Хлыстова, Б.Б. Барышев, Г.Н. Суркова  
Лаборатория эмбрионального гистогенеза НИИ  
морфологии человека АМН СССР, Москва

Необходимость изучения гистофизиологии органов лимфопоэза плода человека в настоящее время не вызывает сомнений и определяется как особая, мало изученная проблема, позволяющая лучше понимать взаимоотношения между матерью и плодом и состояние иммунологического гомеостаза развивающегося плода. Рядом авторов (Э.В. Гюллинг, 1977; О.Ф. Мельников, 1978 и др.) миндалины относятся к системе иммуногенеза. Однако, какое место они занимают в этой системе и когда в них наступает дифференцировка клеток, позволяющая причислить миндалины к лимфатической системе человека, еще не известно.

В данной работе исследованы небные миндалины 130 плодов человека 9-32 недель развития с применением гистохимических,



иммуноморфологических и морфометрических методов исследования. Установлено, что закладки небных миндалин в виде особых эпителиального и мезенхимного компонентов появляются у плода 9 недель развития. В II недель мезенхимный компонент отдельными очагами перестраивается в ретикулярную ткань, заселяющуюся лимфоцитами. От эпителия в участки лимфоидной ткани вырастают тяжи многослойного эпителия. В 13-14 недель развития плода площади обеих тканей почти равны. Эпителий составляет 51,3%, а лимфоидная ткань 48,6% всей площади органа. В это время становится возможным получить из органа суспензию клеток и определить в ней 21,6% Т-лимфоцитов. Таким образом, в первый период от 9 до 14 недель развития плода в миндалине провизорные структуры перестраиваются в дефинитивные.

Второй период, от 16 до 20 недель развития плода, характеризуется появлением новых структур и процессов, характерных для миндалин. Резко нарастает (от 57,7% в 16 недель до 76,7% к 20 неделям) площадь лимфоидной ткани и увеличивается процент Т-лимфоцитов до 60,6.

В эти же сроки в миндалине наступает консолидация эпителиальной и лимфоидной тканей, которая выражается инфильтрацией эпителия лимфоцитами и образованием функционирующей единицы миндалины-криптолимфона. В последний входят: первичный лимфоидный фолликул без реактивного центра; посткапиллярные венулы по периферии фолликула; многослойный эпителий, покрывающий фолликул.

В третий период развития миндалины от 20 недель и до рождения происходит рост органа и увеличение площади особенно лимфоидной ткани. К 32 неделям она занимает 80%, а эпителий 19,9% всей площади органа. Масса эпителия увеличивается в два раза, а лимфоидной ткани - в 7 раз. Несмотря на увеличение органа и нарастание в нем лимфоидной ткани процент Т-лимфоцитов остается примерно одинаковым в период от 16 до 32 недель. Он не превышает 60%. Нами в небных миндалинах плода иммуноглобулинположительных клеток (В-лимфоцитов) не обнаружено.

Делается заключение о том, что небные миндалины человека уже в эмбриональный период входят в состав лимфатической

системы и функционируют как ее составная часть.

И последний вопрос о свойствах лимфоцитов. В настоящее время известно, что состояние нормальных и патологических процессов в организме связано с репрессией генов, в которой принимают участие гистоны. Сотрудницей клиники детских болезней Московского медицинского стоматологического Института Г.Н. Сурковой, которая работает вместе с нами, выяснились количественные отношения ДНК:гистоны в ядрах лимфоцитов крови здоровых детей и больных пневмонией, являющиеся косвенным показателем заинтересованности генома лимфоцитов в поддержании гомеостаза организма. Ею же проводились исследования мазков из лейкоконцентратов, подвергшихся двойной окраске на ДНК и гистоны по В.П. Гурбанову (1970) с последующей цитофотометрией.

Цифровые показатели позволили определить 3 группы лимфоцитов в крови здоровых детей, в которых отношения ДНК:гистоны выражаются различными цифрами: 1 гр. - 1,086; 2 гр. - 1,141; 3 гр. - 1,224. При заболевании пневмонией отношение ДНК:гистоны понижается во всех группах лимфоцитов на одну и ту же величину - 0,137, а при выздоровлении эти отношения нормализуются. Таким образом, выявленные групповые различия лимфоцитов по показателям ДНК:гистоны, очевидно, отражают различную степень репрессии генов в них. Эти отношения лабильны. Они изменяются при пневмонии и восстанавливаются при выздоровлении ребенка.

#### ЛИТЕРАТУРА

Боннер Д., Хан Р. В кн.: Гистоны и перенос генетической информации. М., "Мир", 1970. - Гурбанов В.П., Куатли М.В., Суман М.А. В кн.: Проблемы гематологии и переливания крови, 1970, 8, с. 26-29. - Гюллинг Э.В. Проблемы отоларингологии в детском возрасте. Киев, 1974, с. 92-III. - Мельников О.Ф. Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 1978, 2, с. 8-12.

# О ГИСТОЛОГИЧЕСКОМ СТРОЕНИИ И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК ОСНОВНЫХ ОРГАНОВ ТИМОЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Д.П. Хуссар, И.Б. Токин, В.С. Зензеров

Кафедра анатомии и гистологии и НИИ общей и молекулярной патологии Тартуского государственного университета, Мурманский морской биологический институт АН СССР

В работе исследовались лимфоидные органы далеких друг от друга представителей позвоночных животных - млекопитающих и рыб, а также птиц, имеющих ряд особенностей в организации тимолимфатической системы (наличие клоакальной сумки, мощное развитие лимфоидной ткани кожи и т.д.). Более подробно изучались тимус и селезенка - основные лимфоидные органы, встречающиеся у всех классов позвоночных (таблица I).

Т а б л и ц а I

Органы лимфопоэза и иммуногенеза у млекопитающих (I), птиц (II) и рыб (III) /по Фонталину Л.Н., 1967; Wright R.K.a. Cooper E.L., 1976/

Орган	I	II	III
Тимус	+	+	+
Селезенка	+	+	+
Лимфатический узел	+	+	-
Клоакальная сумка	-	+	-
Кожа	-	+	-
Почка	-	-	+

\* Истинные лимфатические узлы имеются только у водоплавающих болотных птиц (гуси, утки и др.).

Нами исследовались общее гистологическое строение и пролиферативная активность лимфоидных клеток тимуса и селезенки у 69 линейных крыс-самцов, 12 мышей-самцов, 50 6-месячных петухов и II североморских камбал-самцов после нереста. При



этом выбирались наиболее типичные представители данного класса позвоночных. Материал подвергался стандартной обработке. Анализ срезов осуществлялся при иммерсионном увеличении (об. 90, ок. 10x1,5). Подсчет количества клеток проводился в поле зрения в 128 мк<sup>2</sup>; вычислялся митотический коэффициент (МК в ‰).

У всех обследованных животных тимус имеет дольчатое строение. У рыб дольки не всегда четко выражены, и разделение их на корковое и мозговое вещество весьма условное. Тельца Гассалья, столь характерные для млекопитающих, у рыб представлены лишь небольшими группами эпителиальных клеток; зато у них всегда встречаются кисты ("кистематозный" тимус). У рыб тимоциты еще не дифференцированы на Т-клетки, они выполняют и Т- и В-клеточную функцию (McKinney E. et al., 1976). Типичные плазмцитозы у рыб отсутствуют, как и у птиц миоидные клетки встречаются в большом количестве. У млекопитающих типичные плазмциты всегда отличаются в тимусе; миоидных клеток нами у крыс и мышей не обнаружено. У млекопитающих и птиц увеличивается количество тимолимфоцитов (по сравнению с рыбами) и уменьшается их пролиферативная активность (таблица 2).

Т а б л и ц а 2<sup>2</sup>  
Количество тимолимфоцитов в поле зрения в 12800 мк<sup>2</sup>  
и их митотическая активность у некоторых видов животных

Животные	Количество лимфоцитов		МК (в ‰)	
	Кора	Мозг	Кора	Мозг
Крысы*	366±20	157±7	3,6±0,4	2,3±0,3
6-мес. петухи*	411±23	205±18	4,9±0,6	2,4±0,4
Камбала после нереста**	256±26		5,8±1,2	

\* Среднесуточные данные.

\*\* Анализ проводился в периферических участках органа, соответствующих корковому веществу долек тимуса у млекопитающих и птиц.

В селезенке у рыб, в отличие от млекопитающих и птиц, лимфоидная ткань не обособлена, Т- и В-зоны не выделены. У камбалы лимфоидная ткань диффузно заселяет селезенку. Тем не менее имеются периваскулярные лимфоидные муфты (Т-зоны?). У мышей СВА встречаются особые гигантские макрофаги, которых не наблюдается у других видов.

У всех обследованных видов животных тимус имеет в принципе одинаковое гистологическое строение; отмечаемые различия, как правило, носят лишь количественный характер. Эти данные подтверждают классические представления Гаммара (1936) о едином принципе гистологического строения тимуса. В ряду позвоночных увеличивается количество тимолимфоцитов и уменьшается их митотическая активность. Изменения в селезенке менее выражены.

#### ЛИТЕРАТУРА

Фон т а л и н Л.Н. Иммунологическая реактивность лимфоидных органов и клеток. Л., "Медицина", 1967. - H a m m a r J. A. Die normal-morphologische Thymusforschung im letzten Viertel-Jahrhundert. Leipzig, 1936. - M c K i n n e y E. C., O r t i z G., L e e J.C., S i g e l M.M., L o - p e z D.M., E p s t e i n R.S., M c L e o d T.F. In: Phylogeny of Thymus and Bone-Marrow. Bursa Cells. Ed. by R. K. Wright a. E.L. Cooper. Amsterdam, 1976. - W r i g h t R. K., C o o p e r E.L. (eds.) Phylogeny of Thymus and Bone-Marrow. Bursa Cells. Amsterdam, 1976.

# РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК КРОВИ, КОСТНОГО МОЗГА И ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ПРИ АНТИГЕННОЙ СТИМУЛЯЦИИ И ВВЕДЕНИИ ДОКСА

Н.А. Юрина, В.А. Ремизова, Л.С. Румянцева  
Кафедра гистологии Университета дружбы народов  
им. П. Лумумбы, Москва

В многочисленных работах показано, что введение в организм антигенов бактериальной природы вызывает активную реакцию клеток крови, костного мозга и лимфоидных органов. Ведущая роль в разворачивании иммунных реакций организма принадлежит тимусу - центральному органу иммунитета. Установлено, что регуляция защитно-приспособительных реакций организма осуществляется со стороны гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (Г. Селье, 1960; В.Г. Елисеев, 1961; П.Ф. Здродовский, 1969; Н.А. Юрина, 1970; Р.В. Петров, 1976). В настоящее время большое количество работ посвящено механизмам действия глюкокортикоидных гормонов коры надпочечников, в то время как действие минералокортикоидов изучено мало. Показано, что дезоксикортикостеронацетат (ДОКСА) активизирует синтез белков и продукцию антител в регионарных лимфатических узлах крыс, предварительно стимулированных антигеном (П.Ф. Здродовский, 1969).

В настоящем исследовании поставлены две основные задачи:

1) сопоставить закономерности клеточных и тканевых реакций на действие бактериальных антигенов центральных и периферических лимфоидных органов, а также крови и соединительной ткани;

2) проследить особенности реакций иммунокомпетентных клеток на антиген на фоне введения ДОКСА.

Для изучения действия бактериальных антигенов в нашей лаборатории использована экспериментальная модель с разовым введением беспородным белым крысам  $\beta$ -гемолитического стрептококка группы А тип 27 в дозе 9 млрд. микробных тел. Второй группе животных параллельно с  $\beta$ -гемолитическим стрептокок-



ком вводили ДОКСА в дозе 5 мг.

Комплексные исследования с внутривенным введением  $\beta$ -гемолитического стрептококка, проведенные в нашей лаборатории (В.П. Слюсарчук, 1975; Э.А. Бадриева, 1979), показали, что в лимфатических узлах увеличиваются число и активность макрофагов, количество малых лимфоцитов и значительно повышается содержание плазмочитов, наблюдается усиление проницаемости гемокапилляров. В периферической крови этих животных выявлен лейкоцитоз с повышением числа лимфоцитов и моноцитов. В соединительной ткани имеет место усиление сосудистой проницаемости и увеличение числа экстравазкулярно расположенных клеток крови.

Учитывая ведущую роль тимуса в реакциях иммунитета, представляло интерес проследить особенности морфологических перестроек в этом органе при введении  $\beta$ -гемолитического стрептококка.

В результате проведенных исследований нами показано, что в ответ на действие бактериальных антигенов в тимусе наблюдается увеличение числа средних и больших лимфоцитов, повышение количества макрофагов и плазматических клеток с максимумом на 3-и сутки. Электронномикроскопическое исследование выявило значительную активацию функции макрофагов. В их цитоплазме увеличено число лизосом и фагосом, пиноцитозных пузырьков, обнаруживается много миелиновых структур, включений липидов и железа. Выявлена значительная активация эндотелиоцитов гемокапилляров: изменение форм и размеров их ядер, увеличение числа микропиноцитозных везикул и микроворсинок, размеров комплекса Гольджи. Отмеченные изменения свидетельствуют об усилении проницаемости гематотимического барьера. Анализ проведенных результатов в сопоставлении с данными предыдущих авторов показывает, что в условиях действия бактериальных антигенов в тимусе возникают тканевые и клеточные реакции, выражающиеся в изменении сосудистой проницаемости, увеличении фагоцитарной активности макрофагов, пролиферации лимфоидных элементов и увеличении числа плазмочитов. Повышение количества макрофагов в тимусе, лимфатических узлах, соединительной ткани и параллельное повышение количества моно-

цитов в крови свидетельствует об активации макрофагальной системы организма. Увеличение числа моноцитов в крови говорит об усилении их образования из стволовых клеток костного мозга. Системный характер реакции моноцитов и макрофагов свидетельствует о наличии центральных механизмов регуляции защитно-приспособительных реакций.

По данным В.П. Слюсарчука (1975), ДОКСА усиливает макрофагальную реакцию соединительной ткани и активизирует процессы пролиферации клеток; введение  $\beta$ -гемолитического стрептококка на фоне ДОКСА вызывает значительное усиление проницаемости гемокapилляров. Поэтому в следующей серии экспериментов мы проследили особенности реакции макрофагальной системы костного мозга и крови при действии  $\beta$ -гемолитического стрептококка на фоне введения ДОКСА. Проведенные нами исследования показали, что введение в организм животных ДОКСА приводит к значительному увеличению в крови моноцитов, а также средних и больших лимфоцитов. В костном мозге отмечается увеличение моноцитов в 4 раза, а больших лимфоцитов в 3 раза, плазмocитарная реакция выражена слабо. Введение стрептококка на фоне ДОКСА вызывает в крови более выраженную реакцию моноцитов и лимфоцитов. Максимальное увеличение количества моноцитов (более чем в 4 раза) отмечается на 3-е сутки. В костном мозге животных уже на 1-е сутки число моноцитов увеличено в 6 раз, больших лимфоцитов в 10 раз и плазмocитов в 3-4 раза. На 3-и сутки эти клеточные реакции достигают максимального развития.

Таким образом, проведенный эксперимент показал, что ДОКСА является неспецифическим фактором, стимулирующим защитные реакции организма, в том числе и иммунные. ДОКСА оказывает активизирующее влияние на моноцитарно-макрофагическую систему, а также влияет на проницаемость сосудов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Елисеев В.Г. Соединительная ткань. М., 1961. - Здродовский П.Ф. Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии. М., 1969. - Петров Р.В. Иммунопатология и иммуногенетика. М., 1976. - Селье Г. Очерки об адапционном синдроме. М., 1960. - Брина Н.А. Докт.дисс. М., 1970.

О НЕКОТОРЫХ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯХ И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ  
АКТИВНОСТИ КЛЕТОК ТИМОЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МЫШЕЙ СВА  
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЧУЖЕРОДНЫХ БЕЛКОВ

Ю.П. Хуссар, М.А. Мазер

Кафедра анатомии и гистологии  
Тартуского государственного университета

В последние годы стали актуальными поиски новых методов и их апробация в иммуноморфологических исследованиях тимо-лимфатической системы. Нами при изучении развития реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ) и соответствующих изменений тимолимфатической системы применялся метод кожного теста Дж. Миллера (Miller J.F.A.P. et al., 1975) в модификации М. Каартинен и Ю.П. Хуссар (1979).

Опыты поставлены на 280 половозрелых мышах-самцах линии СВА средним весом 20 г, которые разделены на 4 группы: I - контроль (интактные животные); II - подкожное введение В-супрессора циклофосфида по 200 мг/кг; III - иммунизация циклофосфамидизированных животных вторичным интрадермальным введением гамма-глобулина сыворотки крови человека в середину внутренней поверхности левого уха по специальной схеме Миллера (1975), развитие РГЗТ; IV - иммунизация вторичным подкожным введением чужеродного белка и развитие гуморального иммунитета. Эффект развития РГЗТ и гуморального иммунитета оценивался радиометрически с последующей гистоавторадиографической обработкой материала. Нами использовался изотоп  $^3\text{H}$ -тимидин в дозе 0,5 мккюри/1 г веса внутривентрально через 10 часов после вторичной иммунизации. За это время интенсивность синтеза ДНК в Т-клетках очага кожной реакции достигает максимума. Изотоп вводился 7-кратно в течение 3 суток. Животные забивались через 1 час после последнего введения изотопа. Многократное введение  $^3\text{H}$ -тимидина позволяет на гистоавторадиографических препаратах определить пролиферативный пул лимфоидных клеток. В части случаев изотоп вводился однократно, а животные забивались в разные сроки после



введения, от 0,5 до 72 часов. На данном материале определялась длительность митотического цикла и его отдельных фаз.

Установлено, что вторичное интрадермальное введение малых доз гетерологического глобулина (III серия) вызывает реакцию ГЗТ. На месте введения антигена увеличивается интенсивность включения  $^3\text{H}$ -тимидина, определяемая радиометрическим способом. Отмечается также четкая картина гистологических изменений. На месте введения тест-антигена развивается моноклеарная реакция; образуется воспалительный отек. Через I сутки после введения антигена в корковом веществе долек тимуса уменьшается количество лимфоцитов, появляются светлые центры; на границе между корковым и мозговым веществом увеличивается количество плазмочитов. В селезенке заметно возрастает количество особых гигантских макрофагов - спленоцитов; отмечается расширение Т-Зон, особенно периваскулярных лимфоидных муфт. При иммунизации вторичным подкожным введением чужеродного белка наблюдается известная гистологическая картина развития гуморального иммунитета.

При развитии РГЗТ в Т-клеточных зонах селезенки (III серия) увеличивается количество меченых  $^3\text{H}$ -тимидином ядер лимфоидных клеток - от 24,4% в норме до 62,7%; укорачиваются митотический цикл и фаза синтеза (таблица). При развитии гумо-

Т а б л и ц а

Длительность митотического цикла и его отдельных фаз  
при различных способах антигенного воздействия

Серия	Зоны	Длительность митотического цикла, час			
		T	$t_{G_2}$	$t_S$	$t_M + t_{G_1}$
I	T	22	2	8	I2
	B	22	2	8	I2
II	T	24	6	8	8
	B	22	4	10-12	6-8
III	T	18	1	5-6	11-12
	B	22	2	8-10	10-12
IV	T	20	2	8	10
	B	16	1	5-6	9-10

рального иммунитета (IV серия), наоборот, "активируются" В-зоны селезенки с повышением пролиферативного пула и ускорением генерационного цикла.

При развитии РГЗТ отмечается ряд характерных гистологических изменений тимуса (уменьшение числа лимфоцитов, появление светлых центров) и селезенки (расширение Т-зон, увеличение количества спленоцитов); повышается пролиферативная активность лимфоидных клеток. При гуморальной иммунизации (IV серия опытов) такой картины не наблюдается.

#### ЛИТЕРАТУРА

Каартинен М., Хуссар Ю.П. В кн.: Вопросы морфогенеза и регенерации. Уч. зап. ТГУ, 498, 1979а, № 4I, с. 27-34. - Хуссар Ю.П., Каартинен М. В кн.: Вопросы морфогенеза и регенерации. Уч. зап. ТГУ, 498, 1979б, 4I, с. 35-4I. - Miller J.F.A.P., Vadas M.A., Whitelaw A., Gamble J. Int. Arch. Allergy appl. Immunol., 1975а, 49, p. 693-708. - Vadas M.A., Miller J.F.A.P., Gamble J., Whitelaw A. Int. Arch. Allergy appl. Immunol., 1975b, 49, p. 670-692.

#### О КОРРЕЛЯТИВНОЙ ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ ПРОЦЕССАМИ АЛЬТЕРАЦИИ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ С УРОВНЕМ В КРОВИ КОРТИКОСТЕРОИДОВ

В.И. Гусихина, Н.П. Буркова, В.П. Михайлов  
Лаборатория экспериментальной гистологии Института  
экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

Изучению инволюции лимфоидной ткани при различных воздействиях и роли в этом процессе кортикостероидов посвящено большое количество работ, начиная с классических исследований Selye (1936) и Dougherty (1952). Однако вопрос этот

продолжает сохранять актуальность, поскольку результаты исследований во многом противоречивы. Это связано не только с различиями в условиях опытов, но и с недостаточным использованием количественных показателей, характеризующих дистрофические и последующие репаративные изменения лимфоидной ткани.

Задачей настоящей работы являлось обобщение полученных и частично опубликованных материалов (Н.П.Буркова, 1979; В.И. Гусихина и Н.С. Сапронов, 1979), характеризующих коррелятивную зависимость между изменениями лимфоидной ткани тимуса и подколенных лимфатических узлов и уровнем циркулирующих в крови кортикостероидов при различных экспериментальных воздействиях.

Опыты поставлены на крысах-самцах линии "Вистар" массой 140-180 г и кроликах-самцах массой 2,5-3 кг. Часть опытов проводилась на адреналэктомизированных крысах через 3 суток после операции. В соответствии с задачами работы животным однократно вводили: 1) гидрокортизон - внутривенно или внутримышечно (в мышцы правого бедра) в дозе 10 мг/100 г; 2) пирогенал (бактериальный пироген) - внутривенно в дозе 0,2 и 5 мкг/кг; 3) нативный лейкоцитарный пироген (эндогенный пироген, приготовленный в лаборатории общей патологии НИИЭМ) внутривенно в дозе 1-2 млд/кг. Наркотизирование крыс парами эфира или фторотана проводилось в специально оборудованном боксе в течение трех часов.

Материал для гистологических исследований брали с учетом возможных суточных ритмов, поэтому в разное время суток наряду с опытной группой забивали контрольных животных. В корковом веществе тимуса и лимфатических узлах (отдельно в светлых центрах и корковом веществе) определяли митотический коэффициент ( $MK^0/00$ ) и коэффициент дегенерирующих клеток ( $KD^0/00$ ). У контрольных и опытных животных через 1, 2, 3, 6, 12 и 24 часа после введения препаратов флуориметрическим методом определяли уровень циркулирующих в периферической крови уровень II-оксикортикостероидов (II-ОКС). Полученные в работе цифровые данные подвергнуты вариационно-статистической обработке.



У контрольных крыс в исследуемое время суток (8, 12, 16 и 20 часов) не отмечалось достоверных изменений МК и КД ни в тимусе, ни в лимфатических узлах, что дало основание вычислить средние значения этих показателей, с которыми и сравнивались результаты, полученные в экспериментах. В корковом веществе тимуса средний МК равен  $7,7 \pm 0,3^0/00$ , а КД -  $7,4 \pm 0,5^0/00$ . В лимфатических узлах в светлых центрах МК составлял  $30,0 \pm 5,1^0/00$ , а КД -  $50,0 \pm 8,1^0/00$ , в корковом веществе МК равнялся  $1,3 \pm 0,3^0/00$ , а КД -  $2,5 \pm 0,3^0/00$ .

После внутрибрюшинного введения гидрокортизона через 2 часа уровень II-ОКС в крови крыс повышается более, чем в 3 раза. Он остается высоким и через 4 часа, через 8 часов снижаясь до нормы. При внутримышечном введении повышение уровня II-ОКС идет плавно, достигая достоверных различий только через 6 часов, постепенно снижаясь к I суткам.

Морфологические изменения (МК и КД) отчетливо коррелируют с уровнем кортикостероидов в крови. В корковом веществе тимуса крыс при внутрибрюшинном введении гормона уже через 4 часа КД увеличился в 34 раза, составляя  $252 \pm 60,0^0/00$  и достигал максимума через 12-24 часа, в 58 раз превышая значения контроля. МК снижался также через 4 часа, наименьшие значения его  $1,1 \pm 0,7\%$  отмечались через I сутки.

При внутримышечном введении гидрокортизона число дегенирирующих клеток увеличивается медленнее. В период от 4 до 12 часов КД возрастает в 4,8 раза и достигает максимум ( $300 \pm 184^0/00$ ) через I сутки. Снижение МК отмечается через 8 часов, минимальные значения его ( $0,92 \pm 0,4^0/00$ ) наблюдаются через I сутки.

В лимфатических узлах после внутрибрюшинного введения гормона КД в светлых центрах уже через 4 часа повышается в 6 раз, резко возрастает он и в корковом веществе. К 12 часам КД меньше, чем в норме, но и узлы на этот срок сильно опустошены. Число митозов в светлых центрах начинает снижаться через 4 часа, достигая через 12 часов минимума ( $6,7 \pm 1,5^0/00$ ). В корковом веществе достоверных изменений МК отмечено не было.

При внутримышечном введении гидрокортизона отмечались

значительные различия в реакции на гидрокортизон правых (рядом с местом введения) и левых (отдаленных от места введения) лимфатических узлов. В правых узлах этой серии опытов наблюдалась массовая гибель лимфоцитов как в светлых центрах, так и в корковом веществе, КД составлял через 4 часа соответственно  $647 \pm 174$  и  $333 \pm 108^0/00$ . В левых узлах через 4-8 часов КД в среднем только в 2 раза был выше, чем в контроле. В корковом веществе он вообще не изменялся. Еще большие различия выявились в числе митозов. Их количество в правых узлах через 4 часа снижалось до нуля и оставалось низким в течение двух суток. В левых узлах через 4-12 часов МК не менялось и только через 1 сутки наблюдалось его снижение.

Изучение изменений лимфоидной ткани тимуса кроликов при лихорадке, вызванной введением пирогенала, показало, что степень деструктивных изменений не всегда коррелирует с величиной лихорадочной реакции, но зависит от уровня циркулирующих в крови кортикостероидов. Лейкоцитарный пироген, вызывая отчетливую лихорадочную реакцию, не сопровождающуюся увеличением уровня II-ОКС в крови, не обуславливает деструктивных изменений в тимусе.

Через 3 часа после эфирного наркоза у крыс уровень II-ОКС увеличивался в 1,5-2 раза, что через 12 часов приводило в корковом веществе тимуса к увеличению КД в 9 раз и снижению МК в 3 раза. При фторотановом наркозе, который не изменяет уровень II-ОКС, морфологические изменения в тимусе отсутствуют. После трехчасового эфирного наркоза у адреналэктомированных крыс достоверных изменений МК и КД отмечено не было.

Полученные данные на новом материале убедительно подтверждают выдвинутое Г. Селье (1936) и Э. Бетцом (1961) положение о ведущей роли кортикостероидов в гомеостазе лимфоидной ткани. В частности они отчетливо выявляют значение способа введения гормона, которое не всегда оценивается должным образом.

## ЛИТЕРАТУРА

Б е т ц Э. Материалы к изучению эндокринного синдрома, вызванного общим облучением организма. М., "Медгиз", 1961. - Б у р к о в а Н.П. Архив анат., 1979, 76, 6, с.39-46. - Г у с и х и н а В.И. Сапронов Н.С. В кн.: Цитологические механизмы гистогенезов. М., "Наука", 1979, с. 80-83. - D o u g h e r t y Т.Ф. *Physiol. Rev.*, 1952, 32, 4, p. 379. - S e l y e Н. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 1936, 17, p. 234.

### О ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯХ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ТИМУСА БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ВРЕМЕННОЙ АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Ю.П. Хуссар

Кафедра анатомии и гистологии, НИИ общей и молекулярной патологии Тартуского государственного университета

Лимфоидные клетки тимуса, особенно корковые тимолимфоциты, отличаются высокой чувствительностью к воздействию внешних факторов. Они повреждаются даже при удалении периферических лимфоидных органов (Фонталин Л.Н., 1967; Харлова Г.В., Хуссар Ю.П., 1972). Хорошо известна чувствительность тимолимфоцитов к воздействию стероидных гормонов надпочечника (D o u h e r t y Т.Ф., 1959 и др.). В связи с этим большой интерес представляет вопрос об изменениях лимфоидной ткани тимуса в условиях повреждения надпочечников.

Целью настоящей работы является изучение гистологических изменений тимуса и пролиферативной активности его клеток при двусторонней энуклеации надпочечников, а также в условиях нанесения термической раны печени.

Опыты поставлены на 70 взрослых белых крысах-самцах средним весом 150-250 г. Гистологически материал исследовался у 67 животных. Крысы были разделены на 4 группы: I - контроль (9), II - двусторонняя энуклеация надпочечников (14),



III - прижигание печени (22) и IV - двусторонняя энуклеация надпочечников и ранение печени (22 животного). Энуклеация надпочечников по Эвансу проводилась А.Ю. Труупыльдом, а нанесение раны печени - Ю.Э. Арендом. Тритированный тимидин -  $^3\text{H}$ -тимидин (специфический предшественник ДНК) - вводился внутривентрально в дозе 1,0 мкюри/1 г веса тела за 1 час до забоя животных. Крысы забивались в одни и те же часы через 3, 6 и 12 суток после операций по 4-9 животных в каждой группе. Материал (кусочки тимуса) подвергался стандартной гистологической и автордиографической обработке. Подсчет лимфоцитов проводился при иммерсионном увеличении (об. 90, ок. 10х1,5) на единицу площади в  $12800 \text{ мк}^2$ . Вычислялся индекс метки лимфоидных клеток  $^3\text{H}$ -тимидином (ИМ в  $^0/00$ ) и митотический коэффициент (МК в  $^0/00$ ).

При двусторонней энуклеации надпочечников отмечается картина гиперплазии лимфоидной ткани (количество лимфоцитов в поле зрения увеличивается, корковое вещество преобладает над мозговым, иногда в корковом веществе появляются реактивные центры). Через 3 суток после операции количество лимфоцитов на единицу площади в  $128 \text{ мк}^2$  в корковом веществе достигает  $398 \pm 5$  вместо  $300 \pm 9$  в норме ( $p < 0,001$ ). Через 6 и 12 суток количество клеток остается повышенным - соответственно  $379 \pm 6$  и  $346 \pm 7$  ( $p < 0,01-0,05$ ). Повышение количества лимфоцитов в мозговом веществе незначительно.

Во все сроки наблюдается весьма гетерогенная картина изменений пролиферативной активности лимфоидных клеток. Резко увеличивается стандартная ошибка, а существенные различия по сравнению с контролем отсутствуют. Например, через 3 суток после операции количество меченых  $^3\text{H}$ -тимидином ядер лимфоцитов в корковом веществе долек равно  $36,00 \pm 7,40$ , а в норме -  $21,17 \pm 1,24$  ( $p > 0,05$ ). ИМ и МК практически не отличаются от контроля. При двусторонней энуклеации надпочечников и нанесении раны печени наблюдается аналогичная, хотя и менее выраженная картина изменений.

При нанесении раны печени отмечается лишь кратковременная (через 3 суток) постоперационная инволюция тимуса и падение пролиферативной активности его клеток. В более поздние

сроки картина не отличается от контроля.

Полученные данные хорошо согласуются с нашими предыдущими исследованиями (Хуссар Ю.П. и соавт., 1979), в которых показано значительное увеличение веса тимуса крысы при энуклеации надпочечников (через 3 суток вес органа достигал  $281 \pm 34$  мг вместо  $180 \pm 20$  мг в контроле;  $p < 0,05$ ).

Таким образом, двусторонняя энуклеация надпочечников вызывает гиперплазию тимуса и весьма гетерогенную картину изменений пролиферативной активности лимфоидных клеток. Нанесение раны печени обуславливает кратковременные неспецифические постоперационные инволюционно-атрофические изменения долек органа.

#### ЛИТЕРАТУРА

Фон т а л и н Л.Н. Иммунологическая реактивность лимфоидных органов и клеток. Л., "Медицина", 1967. - Х а р л о в а Г.В. Регенерация лимфоидных органов у млекопитающих. М., "Медицина", 1975. - Х у с с а р Ю.П. Дисс. докт. мед. наук. Тарту, 1972. - Х у с с а р Ю.П., П о д а р У.Я., А р е н д Ю.Э., Т р у у п ы л ь д А.Ю. В кн.: Вопросы морфогенеза и регенерации. Уч. зап. ТГУ, 498, 1979, № 41, с. 21-26. - D o u g h e r t y T.F. In: Kinetics of Cellular Proliferation. Ed. by F. Stohlman. Grune a. Stratton, Inc. New York, 1959, P. 264-277.

РЕШЕНИЕ И РЕКОМЕНДАЦИИ  
РЕСПУБЛИКАНСКОГО НАУЧНОГО СОВЕЩАНИЯ  
"ТКАНЕВАЯ БИОЛОГИЯ III"

Тартуская конференция по тканевой биологии является уже третьей. Первая из них состоялась в 1964 году, а вторая - в 1976 году. Общей идеей при организации этих конференций является реализация назревшей потребности объединить и координировать работу патологов и гистологов различного профиля, направленную на изучение ряда фундаментальных проблем современной биологии и медицины.

Результаты первых двух конференций показали рациональность проведения их под названием "биология тканей", так как тем самым ликвидируются необоснованные, но бытующие противопоставления гистологии нормальной гистологии патологической.

На четырех заседаниях третьей конференции был заслушан и обсужден 41 доклад по проблемам: детерминация и дифференцировка тканей, репаративный гистогенез и его регуляторные механизмы, реактивные изменения тканей в норме и патологии и вопросы биологии лимфоидной ткани. Проблемы эти представляют не только серьезное теоретическое значение, но и непосредственный клинический интерес.

Изучение детерминации и дифференцировки тканей связано с выяснением и уточнением их морфогенетических потенций. Вопрос этот очень важный, так как имеется ряд латентных потенций, невыявленных при обычных условиях. Они, однако, проявляются в экспериментальных и патологических условиях, в частности, при различных метаплазиях и опухолевом превращении.

Изучение реактивных изменений и, в частности, репаративного гистогенеза тканей уточняет морфогенетические потенции, изученные в ряде случаев недостаточно полно. Вместе с тем оно выясняет конкретные нейрогуморальные механизмы, регулирующие тканевый гомеостаз. Без выяснения этих механизмов невозможны дальнейшие исследования по регуляции пролиферации клеток и их последующей дифференцировки в необходимых направлениях.



Все это является предпосылкой при изучении восстановительных процессов в тканях и органах в обычных условиях и после различных воздействий, в т.ч. экстремальных.

Изучение биологии лимфоидной ткани связано в первую очередь с изучением механизмов ее гомеостаза, так как деятельность ее обеспечивает не только фагоцитарную, но и иммунологическую реактивность организма. Разрешение этой проблемы выходит за пределы морфологических дисциплин, так как лимфатическая система в настоящее время должна рассматриваться в качестве одной из интегрирующих систем целостного организма.

Участники совещания констатируют, что идея совместного обсуждения гистологами и патологами ряда общebiологических и медицинских вопросов является плодотворной и начинает находить широкий отклик. Этим, несомненно, объясняется то, что число участников третьего совещания, по сравнению с предыдущими, еще более увеличилось. В его работе приняли участие 59 специалистов (гистологов, патологоанатомов, цитологов и др.) из 8 городов нашей страны, не считая Тарту и Таллина.

Все это ставит вопрос о целесообразности превращения республиканских конференций по проблемам тканевой биологии в регулярные, которые должны созываться не реже одного раза в четыре года с приглашением специалистов различного профиля из ведущих морфологических центров СССР.

В связи с этим необходимо поставить вопрос о желательности опубликования материалов в дальнейшем в полном виде (с иллюстративным материалом) в специальных выпусках научных трудов Тартуского государственного университета.

## С о д е р ж а н и е

В.П. Михайлов. Генетическая система тканей и их иерархическая таксономия .....	3
--	---

### I. ДЕТЕРМИНАЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ТКАНЕЙ

Д.К. Кярнер. Эндо- и экзоцитоз во время лабильной детерминации клеток .....	14
А.О. Пийрсоо. Морфологическая характеристика гетерогенности стромальных клеток в тканевой культуре. ....	16
С.Ф. Рудакова. Размножение и морфологические изменения стромальных колониеобразующих клеток костного мозга и селезенки человека при лимфогранулематозе .....	19
К.И. Пыльдвере, А.О. Пийрсоо, М.-А.А. Рейнтам, Э.Р. Лепш. О культивировании клеток экссудатов серозных полостей для диагностики опухолей .....	22
С.А. Вероман. О трансдифференциации тканей глаза в лентоиды в тканевых культурах .....	25
Э.Э. Лейбур. Рост и превращение зубных зачатков в культуре ткани .....	28
Г.В. Коновалов, Е.И. Чумасов. Фагоцитарные свойства нейтроглии .....	30
А.Г. Бобков. О реактивных гетеротопических дифференцировках тканей легких .....	33
Ю.Я. Эльвест. Морфологические проявления дифференцировки клеток экспериментальных гепатом на разных этапах их прогрессии .....	36
Т.Э. Неуман, Т.А. Лаасберг. Влияние экзогенных циклических мононуклеотидов на дифференциацию гензеновского узелка куриного эмбриона .....	39
В.Л. Мишин. Дифференциация клеток кишечного эпителия <i>Sagitta elegans elegans</i> (Verrill, 1873) ( <i>Chaetognatha</i> ) .....	41

## II. РЕПАРАТИВНЫЙ ГИСТОГЕНЕЗ И ЕГО РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

Ю.Э. Аренд, А.Ю. Труупыльд. К изучению репаративной и физиологической регенерации различных эпителиальных и соединительных тканей у одних и тех же подопытных животных .....	44
Т.Н. Труупыльд. О пролиферативной активности адренокортикальных клеток при энуклеации надпочечников и нанесении ожога печени у белых крыс .....	48
Ю.Э. Аренд, Т.Ю. Торпатс. О репаративной регенерации соединительной ткани в ране печени в условиях одновременной регенерации коры надпочечников у белых крыс.....	51
Л.Р. Сапожникова, Х.М. Авиньо Маррадес, Г.С. Катинас. Посттравматическая регенерация и время суток ...	54
В.А. Вадес. Об изменении репаративных процессов соединительной ткани в ходе заболевания .....	56
С.А. Кетлинский, Е.В. Парфенова. Изучение синтеза гистидин-богатых белков в процессе регенерации эпидермиса и влияние на него кейлонов .....	58
Б.П. Солопаев, И.Ф. Колпащикова, Л.С. Палигина, В.В. Садовникова, В.Н. Иноземцева. Изучение механизмов регенерации нормальной и патологически измененной печени .....	61
И.А. Коваленко. Полиплоидизация гепатоцитов при спонтанной и репаративной регенерации цирротически измененной печени .....	64
Г.В. Хомулло, Т.В. Иваненко, В.И. Лотова, В.М. Травкина, Т.И. Рыжова, Г.А. Кокорева. Дифференцировка клеточных элементов при репаративном остеогенезе и введении кальцитонина .....	67
П.О. Роосаар. О регенерации костной ткани в условиях нарушенной иннервации .....	69
Э.-М.И. Метса. Репаративная регенерация цемента зуба.	72
А.Ю. Труупыльд, Ю.К. Кярнер, Т.Н. Труупыльд. К вопросу об источниках репаративной регенерации коры надпочечника .....	74



А.Н. Черняев. Ультраструктура фибробластов и соотношение фракций коллагена в грануляционной ткани регенерирующих ран кожи при введении кальцитонина.....	77
А.И. Радостина. Влияние стероидных гормонов на морфологию и функцию фибробластов в репаративной фазе асептического воспаления и при заживлении разрезов кожи .....	80
И.М. Солопаева. Свойство хорионического гонадотропина человека стимулировать обратимость патологических изменений в печени.....	83
Б.В. Алешин, Е.Я. Панков, С.Г. Гнидаш, Е.В. Мирошников, Л.А. Зайченко, И.И. Шеститко, Л.В. Самосудова. Участие переднего гипоталамуса в регуляции посттравматического восстановительного процесса в кости .....	86

### III. РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Д.И. Афанасьев, В.И. Ноздрин, О.И. Михайлов. Популяционные аспекты торможения ракового роста витамином А .....	88
С.А. Кетлинский. Изменение активности эпидермальных кейлонов в процессе кожного канцерогенеза, индуцированного метилнитрозомочевинной .....	92
Т.И. Вейдебаум, Э.И. Пылдвере. Количественный анализ гепатоцитов мышей-носителей перевиваемых гепатом с разной скоростью роста .....	95
В.К. Перт. Сезонные изменения митотической активности клеток в корковом веществе надпочечника и в аденогипофизе крыс в норме и при реакции стресс. ....	98
А.Ю. Труупылд. Реактивные пролиферативные изменения в аденогипофизе белых крыс в условиях временной адренокортикальной недостаточности .....	101
П.О. Роосаар. О пролиферативной активности клеточных элементов слизистой оболочки желудка в условиях одновременной регенерации коры надпочечников и раны печени у белых крыс.....	104

В.А. Силласту. О физиологической регенерации эпите- лия крипт тонкой кишки в условиях энуклеации надпочечников и ожога печени.....	I06
Ю.Э. Аренд, Т.Ю. Торпатс. О влиянии двусторонней энуклеации надпочечников на состояние печеночной паренхимы у белых крыс .....	I09
В.В. Кадакас. Сравнение результатов биохимического и гистохимического определения содержания гликоге- на в печени мышей .....	II2
В.Е. Пигаревский. Морфологическая концепция о грану- лоците как секреторной железе .....	II4
А.М. Добыкин, Л.П. Майорова, Г.В. Коновалов. Роль нейроглии в развитии периаksonального процесса вирусной природы .....	II7
О.В. Мартма, Э.Э. Лепп. О патоморфологических измене- ниях у кур и морских свинок, зараженных атипичными микобактериями .....	I20
В.Е. Пигаревский, Ю.А. Мазинг, И.Я. Фокина. Лизоса- мально-катионный тест и результаты его примене- ния в экспериментальной и клинической практике..	I23
Х.М. Авиньо Маррадрес, Г.С. Катинас. Локальные разли- чия ритмики митотической активности в эпителии эпидермального типа .....	I26
Л.А. Икман, Н.И. Лобода, А.Ю. Труупыльд. Митотическая активность эпителия пищевода у умерших от раз- личных болезней .....	I28

#### ИУ. ВОПРОСЫ БИОЛОГИИ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ

Г.С. Катинас, В. Брежнева, В.Л. Быков, В.Г. Гололо- бов, О.Г. Ляшко. Ритмика клеточного размножения в лимфоидных органах и различия в ходе отторжения кожного трансплантата при операции в разное время суток .....	I31
З.С. Хлыстова, Б.Б. Барышев, Г.Н. Суркова. Дифферен- цировка Т-лимфоцитов миндаины плода человека и реактивные изменения лимфоцитов периферической крови .....	I33

Д.П. Хуссар, И.Б. Токин, В.С. Зензеров. О гистологическом строении и пролиферативной активности клеток основных органов тимолимфатической системы у некоторых видов позвоночных животных.....	I36
Н.А. Юрина, В.А. Ремизова, Л.С. Румянцева. Реактивные изменения клеток крови, костного мозга и лимфоидной ткани при антигенной стимуляции и введении ДОКСА .....	I39
Ю.П. Хуссар, М.О. Мазер. О некоторых гистологических изменениях и пролиферативной активности клеток тимолимфатической системы мышей СВА при воздействии чужеродных белков.....	I42
В.И. Гусихина, Н.П. Буркова, В.П. Михайлов. О коррелятивной зависимости между процессами альтерации и восстановления лимфоидной ткани с уровнем в крови кортикостероидов .....	I44
Ю.П. Хуссар. О гистологических изменениях лимфоидной ткани тимуса белых крыс в условиях временной адренокортикальной недостаточности.....	I48
Решение и рекомендации республиканского научного совещания "Тканевая биология III" .....	I51



ТКАНЕВАЯ БИОЛОГИЯ.  
Материалы третьего республиканского  
научного совещания 3-4 июня 1980 г.  
На русском языке.  
Тартуский государственный университет.  
ЗССР, 202 400, г.Тарту, ул. Юликооли, 18.  
Ответственный редактор Э.Мурашев.  
Корректоры Ю.Сарв, Н.Чикадова.  
Подписано к печати 06.12.1980.  
МВ 09442.  
Формат 30х42/4.  
Бумага писчая.  
Машинопись. Ротапринт.  
Учетно-издательских листов 8,48.  
Условно-печатных листов 9,3. Печатных 10,0.  
Тираж 400.  
Заказ № 1305.  
Цена 1 руб. 30 коп.  
Типография ТГУ.  
ЗССР, 202 400, г.Тарту, ул. Пялсона, 14.

І руб. 30 коп.